АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIII. ВЫП. 6

НОЯБРЬ—ДЕКАБРЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1954

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
31 JAN 1955

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

*ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ»
ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8.
КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»*

Рукописи направлять по адресу:
Москва Б-64, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

О ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМАХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ ПАЛОЧЕК

З. А. Канунникова

Существование фильтрующихся форм у молочнокислых палочек отмечается немногими авторами.

Рудаков [1], наблюдая за развитием Bact. casei и Bact. bulgaricum, указывает, что эти бактерии, наряду с видимыми в микроскоп гонидиями, при помощи которых они размножаются, образуют также и невидимые в оптический микроскоп фильтрующиеся формы, которые, как предполагает автор, также участвуют в процессе размножения указанных бактерий.

Отличием обнаруженных фильтрующихся форм от фильтрующихся форм других бактерий является то, что полученные автором формы при

Рис. 1. Исходная культура Bact. Delbrückii на сусле с дробиной

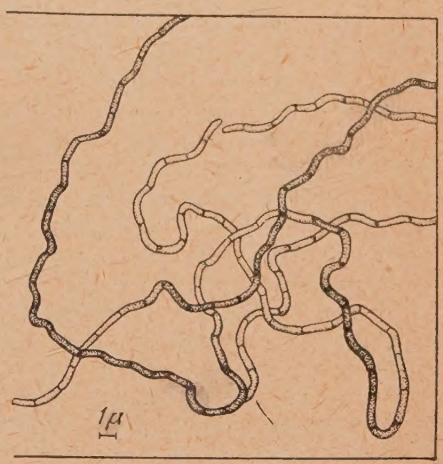

Рис. 2. Исходная культура Bact. Delbrückii на солодовом агаре

внесении их в питательные среды быстро прорастают и превращаются в нормальные палочки.

Подобные же результаты были получены и Скалоном [2]. Но фильтрующиеся формы молочнокислых палочек в опытах у Скалона образовывались нерегулярно и развивались очень медленно. Выросшие из этих фильтрующихся форм культуры обладали слабой активностью и морфологически отличались от исходной. В работе Скалона остался невыясненным вопрос о том, являются ли полученные им фильтрующиеся формы идентичными гонидиям, описанным Рудаковым, или они не имеют
кой связи с процессом размножения культуры.

Как известно, молочнокислая палочка Bact. Delbrückii разм
делением, причем перегородка внутри клеток образуется не вс
редине палочки,— иногда она образуется ближе к ее концу, в
чего наблюдается так называемое неравномерное деление кл

Наблюдения за развитием Bact. Delbrückii в висячей ка
что, помимо размножения обычным делением клетки п

10 их
уль-

туры pH стал значительно снижаться, но все же изменение его было слабее, чем у исходной культуры.

Внешний вид и расположение полученных форм по мере их развития также изменялись. Вначале культивирования клетки овальной формы располагались в поле зрения одиночно, попарно или кучками. Затем, через несколько пересевов стали появляться цепочки из нескольких клеток, и, наконец, были обнаружены небольшие палочки размером $1 \times 0{,}5$ μ и больше. В одной и той же цепочке одновременно можно было обнаружить клетки овальной формы и палочки (рис. 4 и 5).

Полученная культура хорошо растет на сусле с дробиной, на сахарозной среде и на сахарозной среде с 0,1% агара; на сахарозном косом агаре образует бесцветные, очень мелкие, овальной формы колонии; в глубине агара образует колонии в виде чечевичек. Культура совершенно не растет на мясо-пептонном бульоне и мясо-пептонном агаре с добавлением сахара, на картофельных средах и молоке.

Так как из 10 опытов в этой серии при фильтровании старой культуры только в одном опыте были получены микроформы и так как они не превращались в исходную культуру, то появление их вызывало сомнение относительно их происхождения. Однако предположение, что эта культура могла попасть из воздуха, можно опровергнуть, как нам кажется, следующими фактами.

1. Муть появилась в пяти параллельных пробирках, и микроскопическая картина во всех пробирках была одинаковая.

2. Пробирки с одним фильтратом и фильтрат + мясо-пептонный бульон были прозрачные, и высевы из них на мясо-пептонный бульон, агар и молоко роста не дали.

3. В серии опытов [10] с фильтрацией стерильной водопроводной воды на тех же средах подобных форм обнаружено не было. При попадании же из воздуха обычных бактерий или грибов их рост обнаруживался очень быстро.

Предположение, что с дрожжами, взятыми нами в качестве кормилок, могли попасть фильтрующиеся формы других молочнокислых бактерий, снимается тем, что в пробирках с дрожжами без фильтрата подобных форм не было обнаружено. Тем не менее, необходимо было выяснить, будут ли образовываться подобные формы без участия кормилок.

В связи с этим следующая серия из десяти опытов была проведена с ферментированными средами. В качестве ферментированной среды бралась суспензия четырехчасовой культуры Bact. Delbrückii на сусле. Одна часть суспензии стерилизовалась при 100° в течение 40 минут (среда А), другая фильтровалась через фильтр Зейца (среда В). В пробирки с вышеупомянутыми средами вносился испытуемый фильтрат старой культуры. Контролем на стерильность ферментированной среды В являлись пробирки с одной ферментированной средой и ферментированная среда с мясопептонным бульоном.

В пяти опытах за промежуток времени от 10 до 21 дня в пробирках с ферментированной средой «В + фильтрат» появилась очень слабая муть. Появившаяся муть в дальнейшем не увеличивалась; pH среды оставался неизменным. Через три недели после появления мути из пробирок был сделан первый посев в те же среды. Уже первый пересев показал, что приготовленные нами ферментированные среды себя не оправдали. Ни в одной пробирке мути не обнаруживалось. Не было обнаружено мути также и на среде А. Пробирки с ферментированной средой без фильтрата и с фильтратом + мясо-пептонный бульон оставались прозрачными. Высев из этих пробирок на мясо-пептонный бульон и агар роста не давали. Не исключена возможность, что при некоторых вариациях приготовления ферментированной среды можно будет получить положительные результаты, например, при взятии исходной культуры разного возраста и фильтровании через различные сроки и т. п.

Рис. 3

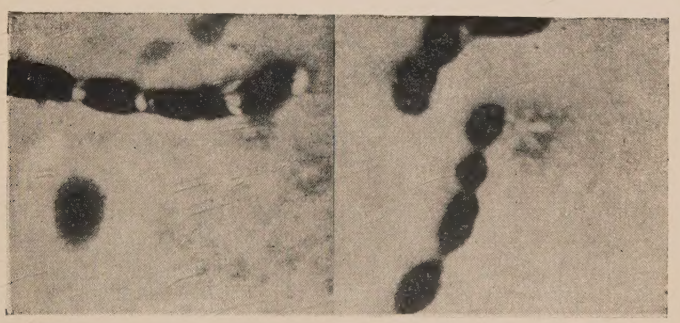

Рис. 4

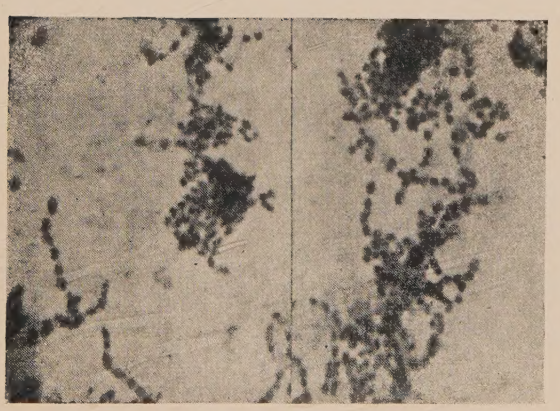

Рис. 5

Рис. 3. Образование мелких почек у исходной культуры. Электроноскопические снимки. Ув. 8000×

Рис. 4. Вид культуры, полученной из фильтрата в присутствии кормилок в жидкой среде. Электроноскопические снимки. Ув. 8000 ×

Рис. 5. Вид культуры, полученной из фильтрата в присутствии кормилок в жидкой среде. Ув. 1000 ×

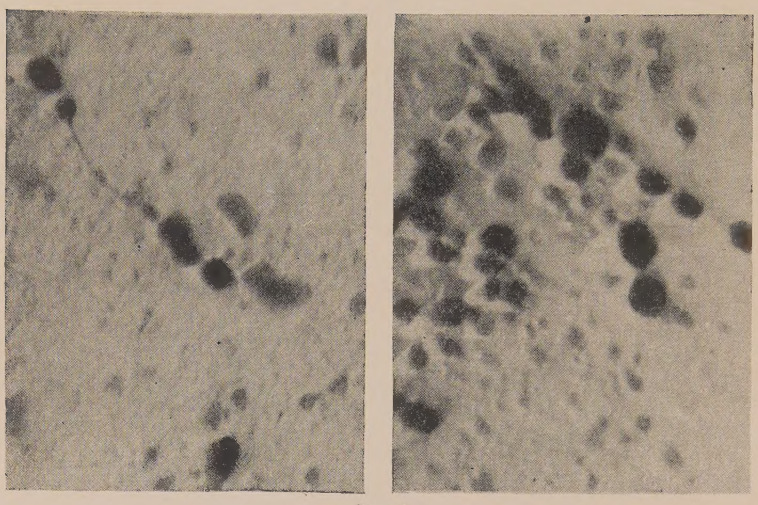

Рис. 6

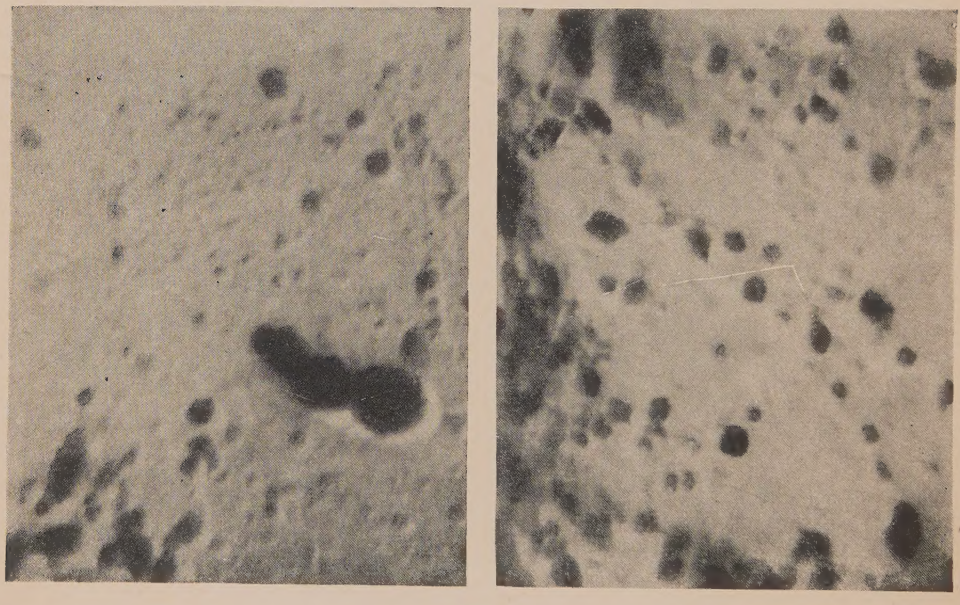

Рис. 7

Рис. 6—7. Вид микроформ, полученных из фильтратов. Электроноскопические снимки. Ув. 200 000 ×

Но в этой же серии опытов фильтрат исходной культуры вносился, помимо ферментированных сред, также и в пробирки с сусло-дробиной. Обнаружив муть в пробирках «сусло-дробина с дрожжевым автолизатом + фильтрат», которая при дальнейших пересевах вновь образовывалась, мы решили ферментированные среды не употреблять, хотя и не отрицаем, что в принципе ферментированные среды могут дать положительные результаты. На среде «сусло-дробина с дрожжевым автолизатом + + фильтрат» в этой серии, состоящей из 10 опытов, в шести была обнаружена слабая муть. Так же, как и в опытах с ферментированной средой, в трех опытах на сусло-дробине образовавшаяся муть была нестойкой и после двух пересевов больше не образовывалась: в остальных же трех опытах нам удалось получить отчетливо пересеваемую муть. Под микроскопом были обнаружены такие же, как в опытах с кормилками, образования овальной формы разного размера. Обнаруженные формы красятся метиленовой синькой и другими анилиновыми красками, хотя не все одинаково интенсивно. При каждом пересеве в сусло-дробину производились также пересевы на мясо-пептонный и сусловый агар, но роста на агаре не обнаруживалось.

Так как видимые нами формы при последующих пересевах внешне не изменялись, мы решили подвергнуть их воздействию слабых кислот и щелочей. Имелось в виду, что если обнаруженные нами формы представляют собой белковые частицы, то после гидролиза они должны или раствориться или изменить свою форму. Однако после гидролиза мы обнаружили под микроскопом еще более четкое изображение овальных форм. Полученные формы напоминали начальную стадию образования микроформ в опытах с кормилками.

В связи с этим было произведено еще 20 фильтраций старой культуры. В этой серии в пяти опытах на сусло-дробине с дрожжевым автолизатом была получена слабая, но постоянно пересеваемая муть, и в двух опытах муть после трех пересевов перестала образовываться. Под микроскопом были обнаружены такие же тельца, имеющие овальную форму. Пересевы в жидкий сахарозный агар (0,1%) в некоторых случаях давали видимый рост, но дальнейшие пересевы на эту же среду не всегда давали такой же видимый рост.

В этой же серии в пяти опытах одновременно с фильтрацией исходная культуральная жидкость вносилась в питательные среды методом разведения. В пробирках с небольшими разведениями, до 10^{-4}, рост культуры обнаружился на следующий день. В пробирках с разведением 10^{-5} рост появился через двое суток, причем не во всех параллельных. Остальные пробирки с дальнейшим разведением культуральной жидкости оставались прозрачными в течение месяца.

Через месяц в пробирках с разведением 10^{-6} (в которых не было обнаружено роста в первый раз) и в пробирках с разведением 10^{-7} замечена очень слабая муть, которая в двух опытах пересевалась и при следующих пассажах. Под микроскопом были обнаружены клетки овальной формы. В этих же двух опытах в пробирках с «фильтратом Зейц + сусло», который также вносился методом разведения, муть образовалась примерно в те же сроки только в тех пробирках, в которых фильтрата было внесено 1—0,5 мл. С меньшим количеством фильтрата в пробирках мути обнаружено не было.

Результаты опытов показали, что фильтрация в условиях данных опытов задерживала формы, дающие впоследствии пересеваемую муть. Однако нерегулярное образование фильтрующихся форм все же нельзя объяснить только задержкой их при фильтрации. Повидимому, эти формы к тому же не все одинаково жизнеспособны.

Таким образом, в девяти из 60 опытов после фильтрации культуральной жидкости были получены микроформы (табл. 2).

В одном случае, после систематических пересевов в жидких и полужидких средах, микроформы удалось вывести из «неактивного состояния» — они представляли собой бактериальную культуру, образующую кислоту почти с такой же активностью, как и у исходной культуры. Однако по внешнему виду полученная культура отличалась от исходной. У остальных восьми культур выращиванием в анаэробных условиях и систематическими пересевами в полужидких средах (особенно на среде из дрожжевого автолизата) удалось несколько ускорить появление видимого роста. В поле зрения микроскопа, наряду с клетками овальной формы, появились короткие палочки размером около микрона в длину. Но способность образовывать кислоту у полученных культур пока не обнаружена. Аналогичная картина наблюдалась и с двумя культурами, полученными в опытах без фильтрации.

Таблица 2

Данные по различным методам регенерации фильтрующихся форм Bact. Delbrückii

Количество фильтраций		Метод регенерации	Количество положительных опытов	
старой культуры	молодой культуры		фильтрат старой культуры	фильтрат молодой культуры
10	—	Кормилки на чашках Петри	—	—
10	—	Кормилки в жидких средах	1	—
10	10	Ферментированные среды и пересевы в сусло-дробину с дрожжевым автолизатом	2	1
20	—	Пересевы с жидких сред на жидкие и твердые	5	—
Опыты без фильтрации				
5	—	Пересевы с жидких сред на жидкие и твердые	2	—

Являются ли полученные нами микроформы стадиями, входящими в нормальный цикл развития исходной культуры? На этот вопрос следует ответить отрицательно, несмотря на то, что фильтрующиеся формы в наших опытах получены без всяких абиологических воздействий на клетки:

во-первых, потому, что «старые культуры», благодаря наличию в них продуктов обмена, также не представляют собой нормальных условий для проявления жизненного цикла;

во-вторых, полученные формы прорастают очень медленно, не образуют кислот и развитие их в клетки наблюдается в средах с pH не ниже 5. В лабораторных же и производственных условиях цикл развития исходной культуры происходит быстро с энергичным образованием кислот. Вследствие этого фильтрующиеся формы просто не могут успеть превратиться в нормальные клетки.

Что же представляют собой полученные микроформы?

Сначала мы предполагали, что эти формы есть не что иное, как почки, не успевшие прорасти в палочки и прошедшие через фильтр. Но опыты с вторичной фильтрацией полученных микроформ показали, что развитие последних происходит, повидимому, за счет более мелких, невидимых в оптический микроскоп, форм.

Наблюдения в электронном микроскопе показывают, что, наряду с формами, видимыми в оптический микроскоп, имеются в большом количестве и более мелкие формы, которые иногда образуют длинные цепочки. Наблюдаются также палочки разных размеров (рис. 6 и 7).

На основании наших наблюдений можно предположить, что эти формы, возникая при неблагоприятных условиях среды, существуют в малоактивном состоянии до тех пор, пока не попадут в благоприятные условия для их дальнейшего развития, при которых могут прорастать в нормальные клетки данного вида.

Свойства микроформ расти, увеличиваться в количестве, изменяться морфологически можно назвать особым циклом развития, присущим данным формам; этот цикл, однако, не входит в обычный цикл развития исходной бактериальной культуры при нормальных условиях ее существования. Возможно, что в этом смысле они могут иметь значение для сохранения вида в природных условиях.

Вследствие того что полученные нами микроформы пока еще не превратились в исходную форму, у нас нет оснований отвергать и другую точку зрения на природу фильтрующихся форм.

Возможно, что последние представляют собой дегенеративные формы, возникшие под влиянием неблагоприятных условий. Вследствие своей слабой жизнедеятельности микроформы не могут превратиться в нормальные палочки и, следовательно, какого-либо существенного значения для нормального развития культуры иметь не могут. Хотя культура Bact. Delbrückii перед опытами тщательно проверялась на чистоту, можно предполагать, что полученные из фильтрата формы являются спутниками исходной культуры, так как выделения из одной клетки последней не производились.

Какая из вышеуказанных трех точек зрения окажется более правильной, покажут дальнейшие исследования.

Выводы

1. Из 60 фильтраций старой и молодой культуры в девяти опытах нами получены фильтрующиеся формы Bact. Delbrückii, представляющие собой мелкие клетки преимущественно овальной формы.

2. Одна культура, полученная при использовании метода кормилок в жидкой среде, через ряд пересевов стала быстрее развиваться, образовывать кислоту и одновременно с этим меняться морфологически, т. е., наряду с клетками овальной формы, наблюдались и небольшие палочки.

3. Восемь культур было получено при применении систематических пересевов на жидких и твердых средах, причем одна культура была получена при фильтрации молодой исходной культуры и семь культур — при фильтрации старой культуры.

4. В двух опытах из пяти подобные же формы были получены и без фильтрации (при внесении старой культуры в питательные среды методом разведения).

5. Культуры, полученные при применении систематических пересевов, очень похожи на культуру, полученную с кормилками в жидкой среде. Они также меняются по внешнему виду, но кислот пока не образуют.

6. Просмотр полученных культур в электронном микроскопе позволяет сделать вывод, что увеличение количества клеток овальной формы происходит за счет более мелких клеток, невидимых в обычный микроскоп.

Институт микробиологии
Академии наук СССР.
Москва

Получено 10.V.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рудаков К. И. О цикле развития молочнокислых палочек. Микробиология, II, вып. 1, 1933.
2. Скалон И. С. Морфологические и физиологические изменения молочнокислых бактерий в связи с их развитием. Микробиология, VIII, вып. 6, 1939.

АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ BAC. MESENTERICUS

А. А. Имшенецкий и *И. Д. Касаткина*

Сейчас уже трудно найти хорошо известный вид микроорганизма, изменчивость которого в лабораторных условиях не была бы изучена. Сравнительно недавно при описании вариантов спороносных бактерий исключительно детально описывался характер их колоний, в том числе колоний складчатых и гладких вариантов, но изучение физиологических особенностей вариантов, как правило, отсутствовало, либо приводились данные об особенностях их роста на обычных питательных средах. Между тем совершенно очевидно, что значительное изменение формы колоний неразрывно связано с характером размножения клеток и в конечном счете представляет собой результат изменившегося обмена веществ. Совершенно естественно, что при современном уровне наших знаний мы не в состоянии объяснить в данное время физиологические основы корреляции, в частности, показать, почему складчатые формы Penicillium chrysogenum образуют гораздо больше пенициллина, чем гладкие. Однако сравнительное изучение обмена веществ у складчатых и гладких вариантов различных микроорганизмов убеждает в том, что в физиологическом отношении они обычно отличаются довольно значительно [1, 2, 3, 4, 5]. Этап накопления фактов в этой области сменится в дальнейшем периодом расшифровки механизма коррелятивных отношений, существующих между структурой колоний и метаболизмом определенного вида микробов. В связи с этим нельзя не отметить, что складчатые и гладкие формы Bac. mesentericus — прекрасные объекты для изучения, так как они резко отличаются по форме колоний и структуре клеток. Поэтому был вполне естественен вопрос о том, отличаются ли эти варианты по своей ферментативной активности. В данной статье содержатся результаты определения протеолитической и амилолитической активности складчатых и гладких вариантов Bac. mesentericus. Физиологическая и морфологическая изменчивость этого вида имеет не только теоретический интерес. Bac. mesentericus широко распространен в некоторых почвах и принимает участие в минерализации органического вещества. Культуры Bac. mesentericus применяются в ферментной промышленности для приготовления препаратов, содержащих амилазу и протеазу (например, «рапидаза» и др.). Изменчивость Bac. mesentericus имеет непосредственное отношение к способности этого вида вызывать ослизнение хлеба. В последнее время стало известным, что из культур Bac. mesentericus могут быть получены антибиотические вещества, обладающие своеобразным действием. Все это делает данный вид бактерий организмом, представляющим интерес для технической и почвенной микробиологии.

Методика

Исследования были проведены с культурами, выделенными из почвы [1]. Культура № 2 была изолирована из серозема, и из нее путем многократных рассевов на чашках и отсевов из наиболее типичных колоний был вы-

[1] Культуры были выделены В. А. Мирзоевой из почвы. Пользуемся случаем выразить ей благодарность за предоставление культур.

делен складчатый вариант 2-в, характерный для обычных, встречающихся в природе складчатых культур Bac. mesentericus, и вариант 3-а, образующий гладкие слизистые колонии. Вторая изучавшаяся культура Bac. mesentericus изолирована из бурой почвы, и в результате многочисленных рассевов были получены типичный складчатый вариант, обозначаемый в дальнейшем как 16/7, и гладкий вариант, обозначаемый 16/1. Бактерии культивировались в пробирках со скошенным мясо-пептонным или картофельным агаром. Поверхностное выращивание как гладких, так и складчатых вариантов осуществлялось в конических колбах ёмкостью в 500 мл. Для изучения активности протеазы бактерии выращивались на МПБ с 5% желатины (pH=6,50). В опытах по определению амилолитической активности культивирование производилось на картофельном отваре (25%) с 0,25% крахмала, pH = 7,39. Бактерии культивировались при 37°. При выращивании на мясо-пептонном бульоне с желатиной pH среды в результате развития бактерий смещался с 6,50 до 7,0—8,4. Культивирование бактерий в условиях глубинной культуры осуществлялось в стеклянных цилиндрических сосудах, в которых были впаяны в нижней части стеклянные пористые фильтры. Объем питательной среды: МПБ с желатиной или картофельного отвара с крахмалом был равен 50 мл. Количество воздуха, продуваемого через МПБ с желатиной, было равно 1,5 объема на 1 объем среды в минуту. В качестве пеногасителя к среде добавлялась одна капля олеиновой кислоты. При изучении амилолитической активности количество продуваемого воздуха составляло 3 объема на 1 объем среды в минуту. В качестве посевного материала вносилась водная взвесь клеток с таким расчетом, чтобы после добавления этой взвеси к стерильной питательной среде количество клеток в ней составляло 20×10^6 в 1 мл. Количество клеток в посевном материале определялось путем непосредственного подсчета. Для определения количества клеток в конце опыта культуральная жидкость разводилась физиологическим раствором в 10 раз. Затем 1 мл полученной суспензии переносился в агатовую ступку и растирался в течение 15—30 минут, после чего жидкость переносилась в пробирку. Ступка и пестик обмывались 9 мл физиологического раствора, и все промывные воды добавлялись в пробирку. Таким образом, культуральная жидкость разводилась в 100 раз, и из полученного разведения приготовлялись фиксированные и окрашенные фуксином препараты для подсчета клеток.

Для определения протеолитической активности 2 мл исследуемой культуральной жидкости добавляли в пробирки, содержащие 8 мл 8%-ной водной желатины. Пробирки выдерживались в водяной бане при 40° в течение 20 минут. После этого содержимое пробирок подвергалось вискозиметрии при 40°. В контролях определялась скорость истечения 8%-ной водной желатины, к которой добавлялась вода или питательная среда в таком же количестве, в каком добавлялась культуральная жидкость в опыте. Амилолитическая активность культуральной жидкости также определялась путем вискозиметрии. С этой целью в пробирки с 9 мл 2%-ного крахмального клейстера добавлялся 1 мл культуральной жидкости. После выдерживания пробирок в течение 20 минут при 40° производилось определение вязкости раствора. В контрольных определениях устанавливалась скорость истечения 2%-ного крахмального клейстера, приготовленного на воде, к которому прибавлялась вода или жидкая питательная среда в таком же количестве, в котором в опыте добавлялась культуральная жидкость.

Активность протеазы

Исследования были начаты с определения протеолитической активности у складчатых и гладких вариантов Bac. mesentericus, выращенных в условиях поверхностной культуры. С этой целью в колбы с жидкой средой был внесен посевной материал и через 24 и 48 часов определялась

активность протеаз, содержащихся в культуральной жидкости. Результаты этих опытов приведены в табл. 1.

Таблица 1

Протеолитическая активность вариантов Bac. mesentericus при их поверхностном выращивании

№ опыта	Варианты Bac. mesentericus	Активность фермента, содержащегося в 2 мл культуральной жидкости					
		через 24 часа			через 48 часов		
		опыт	контроль 1	контроль 2	опыт	контроль 1	контроль 2
		Скорость истечения жидкости в секундах					
1	Гладкий 3-а	50 47 45	43	57	35 34 33 47	45	57
2					48	47	57
	Среднее	47	43	57	39	46	57
1	Складчатый 2-в	23 23 22	43	57	21 21 21 25	45	—
2					28	47	57
	Среднее	23	43	57	23	46	57
	Гладкий 16/1				46 46	47	57
	Среднее				46	47	57
	Складчатый 16/7				26 26,5	47	57
	Среднее				26	47	57

Примечание. Контроль 1 — желатина (8 %) + вода; контроль 2 — желатина (8 %) + питательная среда.

Результаты опытов позволяют сделать вывод о том, что под влиянием протеаз, содержащихся в культуральной жидкости, скорость истечения желатина в 1,5—2 раза скорее при действии жидкости из культур складчатых вариантов Bac. mesentericus, чем из гладких. При поверхностном выращивании Bac. mesentericus складчатый вариант образовывал на поверхности жидкости довольно мощную складчатую пленку. Естественно возникал вопрос, не обусловлена ли более высокая протеолитическая активность складчатого варианта именно различным характером роста гладкого и складчатого варианта. В связи с этим были проведены опыты по размножению вариантов в условиях глубинной культуры, т. е. в жидкой питательной среде, через которую постоянно продувался воздух (см. методику). Результаты этих опытов сведены в табл. 2.

Мы видим, что и в условиях глубинной культуры складчатый вариант образует более активные протеазы, чем гладкая форма Bac. mesentericus. Следует, однако, отметить, что это различие у культур 3-а и 2-в выражено более отчетливо, чем у культур 16/1 и 16/7. Однократное определение активности протеаз не могло решить вопроса о большей или меньшей активности вариантов, так как не исключалось, что в культурах различного возраста активность вариантов не одинакова. Поэтому было проведено определение активности протеаз в культурах различного возраста. Выращивание бактерий производилось также в условиях глубинной культуры.

Таблица 2

Протеолитическая активность вариантов Bac. mesentericus при выращивании их в условиях глубинной культуры
(Возраст культуры 18 часов)

№ опыта	Варианты Bac. mesentericus	Активность фермента, содержащегося в 2 мл культуральной жидкости	
		опыт	контроль
		скорость истечения жидкости в секундах	
1	Гладкий 3-а	32	33
2		30	34
	Среднее	31	33
1		19	37
2	Складчатый 2-в	15	33
3		18	34
	Среднее	17	35
1		23	41
		22	41
2	Гладкий 16/1	25	48
		25	48
	Среднее	24	44
1		20	41
		19	41
	Складчатый 16/7	20	48
2		20	48
	Среднее	20	44

Примечание. Контроль — желатина (8%) + вода.

Таблица 3

Влияние возраста культуры на активность вариантов Bac. mesentericus, выращиваемых в условиях глубинной культуры

№ опыта	Варианты Bac. mesentericus	Активность фермента, содержащегося в 2 мл культуральной жидкости							
		4 часа		8 часов		24 часа		30 часов	
		опыт	контроль 1	опыт	контроль 1	опыт	контроль 1	опыт	контроль 1
		скорость истечения жидкости в секундах							
1	Гладкий 3-а	33,5		30		27		27	
		34	33	22	32	21	31	26	33
				23		26		25	
2		—	—	23	30	23	30	—	30
	Среднее	34	33	25	31	24	30	26	31
1	Складчатый 2-в	25		15		14		14	
		24	33	16	32	15	31	14,5	33
				18		14		14	
2				17	30	14	30	14	30
	Среднее	25	33	16	31	14	30	14	31

Примечание. Контроль 1 — желатина (8%) + вода.

Из данных, приводимых в табл. 3, вытекает, что уже в 4-часовой культуре складчатого варианта Bac. mesentericus обнаруживаются протеазы, тогда как в культурах гладкого варианта их еще нет. В культурах 8-часового возраста протеолитическая активность культуральной жидкости из культуры складчатого варианта в 1,5 раза выше, чем в культуральной жидкости из культур гладкой формы. Значительный интерес представляет тот факт, что уже в 8-часовых культурах протеолитическая активность почти достигает своего максимума. В культурах 24-часового и 30-часового возраста активность протеаз по сравнению с 8-часовыми культурами почти не возрастает.

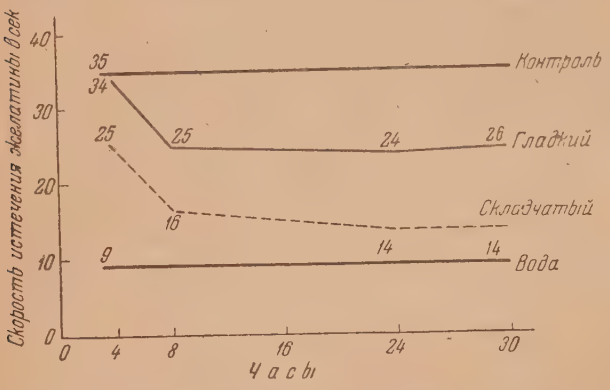

Рис. 1. Протеолитическая активность вариантов Bac. mesentericus, выращиваемых в условиях глубинной культуры. Контроль: желатина (8%) + среда

Для наглядности эти данные приведены в виде кривых на рис. 1. Это обстоятельство лишний раз подчеркивает приспособительный характер экзопротеаз. Уже в начальных стадиях развития культуры бактерии выделяют в окружающую среду максимальное количество протеаз, гидролитическая деятельность которых обеспечивает бактериальные клетки необходимыми им растворимыми формами азота. В этом — основное назначение всех гидролаз, и поэтому обычно их выделение в среду наблюдается уже в молодых культурах микроорганизмов.

Активность амилазы

Исследования, связанные с определением амилолитической активности складчатых и гладких вариантов Bac. mesentericus, были начаты с сопоставления активности амилазы, содержащейся в культуральной жидкости поверхностных культур этой бактерии. Как уже указывалось в методике, выращивание производилось на картофельной жидкой среде с крахмалом. Определение активности амилазы было произведено в 24- и 48-часовых культурах. В табл. 4 приведены результаты этих опытов.

Эти данные позволяют сделать следующие выводы.

1. Складчатые варианты образуют значительно более активную амилазу. Так, в суточной культуре у гладкого варианта 3-а амилаза мало активна, тогда как у складчатого варианта 2-в активность амилазы в семь раз выше. Соответственно, у складчатого варианта 16/7 активность амилазы в четыре раза больше, чем активность у гладкой формы.

2. У складчатых вариантов уже в 24-часовых культурах накапливается активная амилаза. С увеличением возраста культуры активность амилазы повышается сравнительно незначительно. В противоположность этому у гладких вариантов активность амилазы в более старых, 48-часовых, культурах становится несколько более высокой. Это приводит к некоторому уменьшению разницы в активности амилазы, содержащейся в культуральной жидкости, получаемой из культур складчатого и гладкого варианта. В дальнейшем аналогичное сопоставление активности культуральной жидкости из культур складчатых и гладких вариантов Bac. mesentericus было произведено после выращивания бактерий в условиях глубинной культуры.

Как видно из данных, приведенных в табл. 5, амилолитическая актив-

Таблица 4

Амилолитическая активность культуральной жидкости при поверхностном выращивании Bac. mesentericus

№ опыта	Варианты Bac. mesentericus	Активность фермента, содержащегося в 1 мл культуральной жидкости			
		через 24 часа		через 48 часов	
		опыт	контроль	опыт	контроль
		скорость истечения жидкости в секундах			
1	Гладкий 3-а	95 85 95	105	62 54	125
2		113 68 81	100	100 51 64	130
	Среднее	89	102	66	127
1	Складчатый 2-в	21 14 14	105	13 12 	125
2		24 17	100	 13 14	130
	Среднее	18	102	13	127
1	Гладкий 16/1	80 85 72	105	56 45	125
2		90 90 85	100	72 50 39	130
	Среднее	90	102	52	127
1	Складчатый 16/7	33 28 23	105	24 19	125
2		34 30 43	100	28 26 29	130
	Среднее	32	102	25	127

Примечание. Контроль — крахмал (2%) + вода.

ность складчатых вариантов в 24-часовых культурах в два-три раза выше, чем гладких форм. Учитывая быстрое размножение Bac. mesentericus в условиях глубинной культуры, следовало выяснить степень амилолитической активности более молодых культур. В связи с этим были поставлены опыты продолжительностью в 10 и в 24 часа. В этих же опытах производится подсчет клеток в конце опыта.

Результаты этих исследований приведены в табл. 6. Они позволяют сделать следующие выводы.

1. В 10-часовых культурах складчатый вариант уже образует амилазу, тогда как культура гладкой формы почти ее не содержит.

2. В 24-часовых культурах активность амилазы у складчатого и гладкого варианта возрастает по сравнению с 10-часовыми культурами.

3. Амилолитическая активность культуральной жидкости в 24-часовой культуре складчатого варианта в три раза выше, чем в культуре гладкой формы.

Таблица 5

Амилолитическая активность культуральной жидкости складчатых и гладких вариантов Bac. mesentericus в условиях глубинного выращивания

№ опыта	Варианты Bac. mesentericus	Активность фермента, содержащегося в 1 мл культуральной жидкости	
		24-часовые культуры	
		опыт	контроль
		скорость истечения жидкости в секундах	
1	Гладкий 3-а	80	145
2		52	85
3		46	94
	Среднее	59	108
1	Складчатый 2-в	26	145
2		17	85
3		16	94
	Среднее	20	108
1	Гладкий 16/1	70	145
2		48	94
	Среднее	59	119
1	Складчатый 16/7	31	145
2		35	94
	Среднее	33	119

Примечание. Контроль — крахмал (2%) + вода.

Таблица 6

Амилолитическая активность складчатых и гладких вариантов Bac. mesentericus при их глубинном выращивании

Варианты Bac. mesentericus	Начальное к-во клеток в 1 мл среды в млн.	Через 10 часов			Через 24 часа		
		К-во клеток в 1 мл. культуральной жидкости в млн.	Активность амилазы, содержащейся в 1 мл культуральной жидкости		К-во клеток в 1 мл культуральной жидкости в млн.	Активность амилазы, содержащейся в 1 мл культуральной жидкости	
			опыт	контроль		опыт	контроль
			скорость истечения в секундах			скорость истечения в секундах	
Гладкий 3-а	20	885	98	102	3186	52	85
	20	—	—	—	3274	46	94
Складчатый 2-в	20	920	59	102	3539	16	85
	20	—	—	—	3186	16	94

Примечание. Контроль — крахмал (2%) + вода.

4. Разницу в амилолитической активности культур нельзя объяснить накоплением большего количества клеток в культурах складчатых вариантов, чем в культурах гладких вариантов. Как видно из данных, приве-

денных в табл. 6, количество клеток в конце опытов у обоих вариантов приблизительно одинаково. Вопрос о накоплении биомассы гладкими и складчатыми вариантами Bac. mesentericus изучался нами специально, и результаты этих исследований будут опубликованы отдельно. Отметим только, что данные культуры накапливали одинаковую биомассу.

Таким образом, складчатые варианты Bac. mesentericus обладают более высокой протеолитической и амилолитической активностью. Во всех без исключения опытах были получены результаты, подтверждающие эти данные. Амилаза и протеаза выделяются клетками Bac. mesentericus в окружающую среду уже в молодых культурах, но с той лишь разницей, что протеазы обнаруживаются в культуральной жидкости уже в 8-часовых культурах, тогда как максимальное накопление амилазы наблюдается в культурах несколько более позднего возраста. Выделение амилазы и протеазы из клеток неразрывно связано с особенностями питания данных вариантов. Интересен факт, что все складчатые варианты Bac. mesentericus являются естественными, обитающими в природе формами. Отсюда может возникнуть предположение о том, что в естественных условиях обитания, т. е. в почве, более высокая ферментативная активность складчатых вариантов Bac. mesentericus носит приспособительный характер. Однако такое объяснение может встретить возражение, так как экспериментальное получение у грибов складчатых форм из гладких приводит к повышению их протеолитической и амилолитической активности [2, 3]. Поэтому не исключена возможность, что именно складчатый характер роста в некоторых случаях коррелирует с высокой ферментативной активностью. Дальнейшие исследования выяснят, какая из этих гипотез окажется более обоснованной. Это не изменит основного положения — появления гладких, менее активных в ферментативном отношении вариантов Bac. mesentericus,— явление, нежелательное в тех случаях, когда этот вид бактерий применяется для получения ферментных препаратов.

Выводы

1. Проведено сравнительное изучение активности протеазы и амилазы, накапливающихся в культурах исходного складчатого и экспериментально полученного гладкого варианта Bac. mesentericus.

2. При одинаковых условиях выращивания в культурах складчатого варианта Bac. mesentericus закономерно накапливаются более активные гидролитические ферменты, чем в культурах гладкой формы. Активность амилазы и протеазы была выше приблизительно в два-три раза.

3. Более высокую ферментативную активность складчатой формы нельзя объяснить большим накоплением биомассы, так как количество клеток у обеих культур было одинаковым.

4. Появление гладких форм в складчатых культурах Bac. mesentericus следует рассматривать как нежелательное явление, особенно в тех случаях, когда культуры Bac. mesentericus применяются для получения ферментных препаратов.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 17.VI.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Касаткина И. Д. К физиологической характеристике гладких и складчатых форм Penicillium chrysogenum. Микробиология, XXI, 548, 1952.
2. Броцкая С. З. Протеолитическая активность складчатого варианта Asp. niger. Микробиология, XXIII, 153, 1954.
3. Имшенецкий А. А. и Перова К. З. Образование амилазы складчатыми расами Asp. niger. ДАН, 81, 685, 1951.
4. Имшенецкий А. А. и Кузюрина Л. А. Окисление сорбита складчатыми расами уксуснокислых бактерий. Микробиология, XXIII, 159, 1954.
5. Карасевич Ю. Влияние азотистого питания на характер роста складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae, ДАН, 89, 741, 1953.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ АЗОТОБАКТЕРА В ПОЧВАХ ЗАИЛИЙСКОГО АЛАТАУ

Ш. А. Чулаков

Казахстан обладает значительными земельными массивами, расположенными в горных и высокогорных районах республики. В этих районах большое развитие получают богарное и орошаемое земледелие, а также промышленное плодоводство.

Но, несмотря на несомненный интерес, который представляют почвы горных областей Казахстана, микрофлора этих почв до сих пор изучена слабо.

Кстати отметим, что материалов по изучению микробного населения горных почв, и в особенности азотобактера, сравнительно немного. Основная часть работ по изучению распространения азотобактера в горных почвах приходится на почвенные типы горных систем Кавказа и Крыма.

Лопатина [3] изучала микрофлору Южного Закавказья. Азотобактер этим автором не был обнаружен ни в горно-луговой, ни в горно-лесной почвенных зонах, ни в почвах сероземного пояса. Это явление объясняется, на наш взгляд, тем, что почвенные образцы были взяты Лопатиной в июле, т. е. в наиболее засушливый период для зоны сероземных почв. Азотобактер, как это будет видно из наших данных, в это время года не обнаруживается и в зоне сероземов Средней Азии; весной же на почвенных пластинках этот микроб выделяется в изобилии. Последнее подтверждается и экспериментальными данными сотрудников Института почвоведения АН Каз. ССР [9].

Отсюда совершенно ясно, что нельзя делать сколь-либо обоснованных заключений о встречаемости азотобактера по однократному взятию почвенных образцов. Только динамические наблюдения за жизнью микробного населения почвы могут дать более правильные представления.

В монографии Сушкиной [6] приводится обширный фактический материал по распространению азотобактера, охватывающий большое число почвенных типов Советского Союза. Однако в этой работе не указываются ни время исследования, ни сроки анализа образцов почвы после взятия их в поле. Между тем оба указанных фактора (особенно первый) имеют существенное значение.

Вопрос о присутствии азотобактера в горных почвах затрагивается также в работах Симаковой [5], Домрачевой [1], Таусона [8] и др. Мы не останавливаемся на разборе этих работ и отсылаем читателя к статье Танатина [7], где изложена история этого вопроса.

В горной системе Заилийского Алатау, основные почвенные типы которой взяты нами в качестве объектов исследования, ярко выражена вертикальная зональность. Климат рассматриваемого нами района характеризуется чрезвычайной неоднородностью. Средние годовые температуры воздуха равномерно убывают по мере поднятия вверх. Наиболее правильное понижение температур с высотой наблюдается в летние месяцы. По мере увеличения абсолютной высоты климат становится значительно мягче. Годовое количество атмосферных осадков возрастает по мере поднятия над уровнем моря.

Объектами наших исследований были сероземные и каштановые почвы предгорных равнин, черноземы прилавков, горно-лесные и горно-луговые почвы высокогорных природных поясов. Почвенные образцы подвергались микробиологическому анализу незамедлительно после взятия их в поле.

При проведении опытов по обнаружению азотобактера мы останови-

Таблица 1

Рост азотобактера на пластинках из почв вертикального ряда

Разрез	Почва	Генетические горизонты	Рост азотобактера по срокам наблюдений			
			апрель	июнь	август	октябрь
1	Сероземная, целина	A_1	++++	0	0	++
		A_2	+++++	++	0	+++
		AB	+++	0	0	+
		B_1	++	++	0	+++
		B_2	0	+	0	++
		C	0	+	0	+
2	Сероземная, поле пшеницы	A_1	+++	0	0	++
		A_2	++++	+	0	+++
		AB	++	++	0	++
		B_1	0	++	0	0
		B_2	0	++	0	0
		C	0	+	0	0
3	Каштановая, целина	A_1	+++++	+++	0	0
		A_2	+++++	++	0	++
		AB	++++	+	0	+++
		B_1	+++	0	0	++
		B_2	0	+	0	+++
		C	0	+	0	0
4	Каштановая, поле пшеницы	A_1	+++++	+++	++	+++++
		A_2	+++++	++	+	++
5	Черноземная, целина	A_1	+++++	++	+	+
		A_2	+++++	0	+	+
		AB	++++	+	0	0
		B_1	+++	0	0	++
		B_2	+	0	0	0
		C	0	0	0	0
			май	июль	сентя рь	
6	Горно-лесная, целина	A_1	0	0	0	
		A_2	0	0	0	
		AB	0	0	0	
		B_1	0	0	0	
		B_2	0	0	0	
		C	0	0	0	
			июнь	сентябрь		
7	Горно-луговая, целина	A_0	0	0		
		A_1	0	0		
		B	0	0		

Примечание. +++++ — сильный рост; ++++ — выше среднего; +++ — средний рост; ++ — ниже среднего; + — слабый рост; 0 — отсутствие роста

лись на методе почвенных пластинок, приготовленных по Виноградскому. Почвенные пластинки готовились без дренажа. Некоторую аэрацию создавали небольшие углубления, сделанные на поверхности почвенных пластинок концом металлического шпателя. Учет проводился

после 6—7-дневной инкубации в термостате при температуре 27—29°. Посев на среду Эшби и кремнегелевые пластинки производился нами в качестве вспомогательного и контрольного определения.

Опыты с почвенными пластинками показали, что азотобактер встречается в условиях предгорных равнин Заилийского Алатау — в сероземах, каштановых почвах и черноземах, но лишь в период достаточного увлажнения (табл. 1).

В горно-лесной и горно-луговой почвах вертикальных поясов не удалось обнаружить азотобактера ни методом почвенных пластинок, ни ме-

Таблица 2

Количество азотобактера в различных почвах предгорий Заилийского Алатау (апрель)

Разрез	Почвы	Генетические горизонты	Глубина в см	Число колоний на 50 г почвы
1	Сероземная, целина	A_1	0—8	105
		A_2	8—23	121
		AB	23—52	63
		B_1	52—118	35
		B_2	118—170	0
		C	170 и глубже	0
2	Сероземная, поле пшеницы	A_1	0—18	74
		A_2	18—38	114
		AB	38—60	34
		B_1	60—118	0
		B_2	118—170	0
		C	170 и глубже	0
3	Каштановая, целина	A_1	0—19	144
		A_2	19—51	182
		AB	51—70	90
		B_1	70—126	50
		B_2	126—180	0
		C	180 и глубже	0
4	Каштановая, поле пшеницы	A_1	0—17	169
		A_2	17—39	202
5	Черноземная, целина	A_1	0—18	124
		A_2	18—35	164
		AB	35—55	112
		B_1	55—75	79
		B_2	75—150	22
		C	150 и глубже	0

тодом раскладывания почвенных комочков на кремнегелевые пластинки С. Н. Виноградского и агаризованную безазотистую среду Эшби. Нужно отметить, что наблюдение на всех средах проводилось регулярно в течение всего сезона, но тем не менее нами не было отмечено ни одного случая роста колоний азотобактера ни на одном из почвенных комочков горно-лесных и горно-луговых почв.

На основании проведенного микробиологического анализа высокогорных почв мы считаем, что Az. chroococcum в горно-лесной (абсолютная высота - свыше 2100 м) и горно-луговой (абсолютная высота — свыше 3100 м) почвенных зонах не встречается.

Причину данного явления, быть может, следует объяснить кислой реакцией среды в горно-луговой почвенной зоне (pH-5, 4); недостатка подвижного фосфора здесь не наблюдается (370,37 мг/кг почвы).

pH водной суспензии в почвах горно-лесного природного пояса несколько выше, чем в предыдущей зоне [6,8]. Содержание подвижного P_2O_5 также высоко, но тем не менее в этом почвенном поясе наличие азотобактера нами не было констатировано. Быть может, здесь сказывается недостаток Ca, так как вскипание в почвах горно-лесного пояса происходит в нижних карбонатных горизонтах (гор. B_2 и глубже).

Что касается нижележащих почвенных типов, то здесь в силу благоприятных для азотобактера физико-химических свойств почвы данный микроорганизм обнаруживается в значительных количествах.

Наибольшее число клеток азотобактера в сероземных, каштановых и черноземных почвах при этом приходится на ранне-весеннее время года (табл. 2).

Приводимые в табл. 2 данные показывают, что в апреле количество колоний азотобактера на 50 г почвы в сероземах достигает 105, в каштановых — 144, в черноземах — 124. Эти данные характеризуют целинные почвы.

В пахотном горизонте окультуренных сероземов число азотобактера было несколько понижено. Причина этого нам не вполне ясна, так как мы не знаем проводившихся на интересующем нас поле агротехнических мероприятий. В каштановых почвах, на поле пшеницы, число клеток азотобактера было больше, чем на целине.

Горизонт A_2 у всех почвенных разностей более богат клетками азотобактера, чем поверхностный горизонт. Так, например, если в сероземах (целина) в горизонте A_1 насчитывается 105 колоний азотобактера на навеску почвы в 50 г, то в горизонте A_2 число азотобактера достигает 121, в каштановых почвах соответственно имеем 144 и 182 и, наконец, в черноземах — 124 в горизонте A_1 и 164 в горизонте A_2.

Вертикальное распространение клеток азотобактера различно для каждого отдельного почвенного типа и зависит от времени года (табл. 1).

В сероземах и каштановых почвах азотобактер обнаруживается в горизонте B_1. По количеству клеток и интенсивноси роста азотобактера нижние горизонты каштановых почв несколько превосходят серозем. В черноземных почвах убывание количества азотобактера по мере перехода в нижние горизонты менее резко, чем в двух предыдущих почвенных типах. Азотобактер в черноземах встречается даже в горизонте B_2 на глубине 150 см в довольно значительном количестве (22 колонии на 50 г почвы).

Глубина проникновения азотобактера весной в окультуренных почвах (поле пшеницы) незначительна. Наибольшее количество клеток азотобактера приходится на подпахотный горизонт.

Рис. 1. Динамика числа колоний азотобактера в сероземных почвах (целина, pH-8,5) в течение вегетационного периода

1 — полевая влажность; *2* — азотобактер; *3* — максимальная гигроскопическая влажность

В июне число клеток азотобактера в верхних горизонтах большинства почв резко падает и азотобактер встречается в нижних горизонтах почвенного профиля. Он обнаруживается в сероземах в этот период времени, хотя и изредка, даже на глубине 150—180 см.

В сероземах, на поле пшеницы, азотобактер в августе нами не отмечался, в октябре на пластинках появляются отдельные колонии.

На пшеничном поле каштановых почв азотобактер встречается в течение всего вегетационного периода. На апрель приходится наибольшее

число клеток этого микроорганизма. В последующие сроки наблюдений количество азотобактера резко падает; на почвенных пластинках развиваются единичные колонии.

Подобную же картину динамики изменений численности азотобактера за вегетационный период дают и целинные варианты сероземных и каштановых почвенных разностей.

Рис. 2. Динамика числа колоний азотобактера в каштановых почвах (целина pH-8,2) в течение вегетационного периода

В сероземах в июне азотобактер в верхнем горизонте не встречается, он обнаруживается в небольших количествах в более глубоких генетических горизонтах почвенного профиля (табл. 1).

В каштановых почвах в это время он выделяется и в верхних горизонтах, но численность его мала и интенсивность роста значительно ослаблена.

В августе азотобактер не был нами обнаружен ни в одной из вышеупомянутых почв. Некоторое оживление наблюдалось осенью — в октябре. На почвенных пластинках, изготовленных из образцов, взятых в это время, появляются пигментированные колонии азотобактера. Число их колеблется от 2 до 15 колоний на 50 г почвы.

В черноземных почвах азотобактер встречается в течение всего вегетационного периода. Наибольшая интенсивность его роста в почвах данной почвенной зоны приходится также на ранне-весенний период времени. В последующие сроки взятия почвенных образцов отмечается уменьшение числа клеток азотобактера.

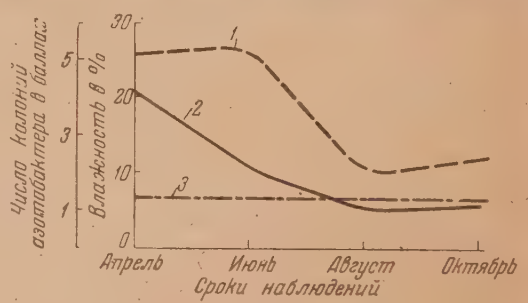

Рис. 3. Динамика числа колоний азотобактера в черноземах (целина pH-7,6) в течение вегетационного периода

Динамика численности клеток азотобактера за вегетационный период в различных почвах дана графически (рис. 1, 2, 3).

Максимальная гигроскопическая влажность для каждого типа почвы нами условно берется за постоянную величину. Число колоний азотобактера на почвенных пластинках Виноградского отмечено в баллах (крестах).

Из графиков видно, что между числом клеток азотобактера и количеством влаги в почве наблюдается тесная зависимость. С приближением влажности почвы к максимальной гигроскопической число клеток азотобактера резко уменьшается, и поэтому микроорганизм зачастую не обнаруживается использованными нами методами.

К выводам аналогичного порядка приходят Мишустин [4], Еникеева [2] и др. Еникеева, в частности, отмечает, что азотобактер для своего размножения требует повышенной влажности, поэтому он встречается, по ее мнению, лишь в достаточно увлажненных почвах. С последним положением мы не можем вполне согласиться, так как азотобактер выделялся нами и из почв с явно недостаточным увлажнением (сероземы, каштановые почвы), но в периоды наибольшего увлажнения (весна, осень).

Выводы

1. Азотобактер в почвах высокогорных поясов (горно-луговой и горно-лесной) не встречается. Данный азотофиксатор был выявлен нами в почвах предгорных равнин — в сероземах, каштановых почвах и черноземах.

2. Наибольшее число клеток азотобактера в сероземных и каштановых почвах приходится на ранне-весеннее время года. Летом азотобактер выделяется с трудом или совсем не обнаруживается использованными в данной работе методами исследований. Некоторая активация наблюдается в осенний период времени — в октябре.

3. В черноземных почвах прилавков азотобактер встречается в течение всего вегетационного периода. Наибольшая интенсивность его роста в почвах данной почвенной зоны приходится также на ранне-весенний период времени. В последующие сроки взятия почвенных образцов намечается уменьшение числа клеток.

4. Для обнаружения азотобактера в том или ином почвенном типе необходимы многократные исследования в течение всех сезонов года.

Институт почвоведения
Академии наук Каз. ССР.
Алма-Ата

Получено 19.I.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

Домрачева Е. А. К характеристике микробиологических процессов в почвах Юго-Осетии. Тр. по изучению производит. сил. Серия Закавказская, вып. 2, Ленинград, 1933.

Еникеева М. Г., Влажность почвы и деятельность микроорганизмов. Тр. Института микробиологии АН СССР, вып. 2, 1952.

Лопатина Г. В. Микробиологическая характеристика некоторых горных почв. Тр. Отдела сельскохозяйственной микробиологии, IV, 1929.

Мишустин Е. Н. О распространении азотобактера в почвах. Микробиология, XXII, вып. 4, 1953.

Симакова Т. Л. Микробиологическая характеристика некоторых горно-луговых почв Крыма и Кавказа. Изв. АН СССР. Серия биол., № 1, 1932.

Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. Изд. АН СССР, М.— Л., 1949.

Танатин Б. Я. О наличии азотобактера в почвах Туркестанского хребта. Микробиология, XX, вып. 6, 1951.

Таусон В. О. Материалы к микробиологии Памира. Тр. САГУ, серия 8, вып. 32, 1936.

Теплякова З. Ф., Ситникова А. С. и Карагуйшиева Д. Распространение азотобактера в некоторых почвах Казахстана. Микробиология, XXII, вып. 2, 1953.

БИОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СПОРООБРАЗУЮЩИХ И НЕ ОБРАЗУЮЩИХ СПОРЫ БАКТЕРИЙ В МИНЕРАЛИЗАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В УСЛОВИЯХ ПЕСЧАНЫХ КУЛЬТУР

А. Г. Тимофеева

Деятельность микроорганизмов в почве сводится к участию в процессе минерализации органических веществ, имеющему большое значение в питании растений и в повышении плодородия почв.

Распад органического вещества в почве происходит при участии различных групп микроорганизмов, последовательно сменяющих друг друга.

На первых стадиях разложения сложных органических веществ преобладают не образующие споры бактерии; последние уступают место спорообразующим бактериям, которые начинают появляться в более поздние периоды процесса минерализации (Красильников и Никитина [3]; Мишустин и Тимофеева [6]; Теппер [7]; Береснева [1] и др.).

По исследованиям Мишустина [4, 5] жизнедеятельность спорообразующих бактерий тесно связана с составом органического вещества почвы. Наличие отдельных групп спорообразующих бактерий может характеризовать степень распада органических веществ в почве; например, на ранних стадиях минерализации растительных остатков в почве появляются Bac. mycoides и Bac. cereus, на более поздних — Bac. megatherium и Bac. mesentericus. Численность Bac. mesentericus особенно возрастает в сероземах, где процессы минерализации органических веществ проходят наиболее интенсивно. В северных зонах спорообразующие бактерии представлены менее богато по количеству и по разнообразию видов; при продвижении на юг их число увеличивается. Указанная закономерность объясняется усилением минерализации органических веществ по мере продвижения с севера на юг.

Спорообразующие бактерии почвы изучали Конн и его сотрудники (Conn [11, 12, 13]). По мнению этого автора, спорообразующие бактерии становятся активными лишь при благоприятных для их роста условиях (в присутствии легко усвояемых органических веществ), но так как подобные условия в природе встречаются редко, то продолжительное время эти организмы существуют в виде покоящейся стадии. Внесение органических удобрений навоза и мочи в песчаные и глинистые почвы может вызвать лишь временную активность споровых форм. В глинистых почвах бактерии менее активны.

Появление тех или иных микробных ассоциаций в природе в значительной степени обусловливается окружающими условиями. В первую очередь имеет значение химическая природа субстрата, на котором развиваются микроорганизмы, а также физико-химические особенности почв, условия аэрации, влажности, состав микроорганизмов конкурентов. При прочих равных условиях жизнеспособными окажутся те формы, которые способны в данных условиях наилучшим образом использовать имеющиеся источники питания.

Превращения углерод- и азотсодержащих соединений под действием спорообразующих и не образующих споры бактерий, а также способность бактерий усваивать эти соединения еще мало изучены.

Известна работа Дорен де Йонг (Dooren de Jong [14]), в которой изучалась способность некоторых спорообразующих и не образующих споры бактерий использовать различные соединения. По данным, приведенным в этой работе, некоторые не образующие спор бактерии способны разлагать большее количество углеродсодержащих соединений по сравнению со спорообразующими.

Целью наших исследований являлось определение условий, при которых появляются спорообразующие и не образующие споры бактерии в массовом количестве.

В данной работе мы излагаем результаты опытов со смешанными культурами упомянутых бактерий. Ставилась задача: 1) установить, какие вещества будут стимулировать или угнетать развитие отдельных групп

бактерий, и 2) выяснить последовательность появления спорообразующих и не образующих споры бактерий при совместном развитии их на разнообразных органических соединениях.

Культивирование бактерий производилось в чистом кварцевом песке, в колбах Эрленмейера при 25—27°. В качестве источников углерода или азота употребляли следующие соединения (в количестве 0,5—1%): 1) углеводы (арабиноза, сахароза, крахмал, клетчатка); 2) белковые вещества (казеин, яичный альбумин, пептон); 3) ряд естественных субстратов (мука пшеничная, солома, дернина луговая, клевер сено, бактериальная масса, мицелий грибов и др.); 4) аминокислоты (аланин, лейцин, гликоколь, гистидин, глютаминовая кислота) и амиды (аспарагин, мочевина); 5) органические кислоты (яблочная, винная, янтарная, гуминовая).

Если испытуемое органическое вещество не содержало азота, то последний добавляли в виде азотнокислого аммония в количестве 0,2%. Минеральные элементы вносили в виде солей в следующем составе: K_2HPO_4—0,1%; $MgSO_4$—0,05%; NaCl—0,2%; $FeSO_4$—0,04% из расчета на жидкую фазу.

Для нейтрализации образующейся кислотности среды вносили мел от 0,5 до 1% в разных вариантах. Питательный субстрат (песок с добавлениями солей и пр.) заражали суспензией из смеси сероземной и подзолистой почв. Подсчет бактерий в исходной водной суспензии производили методом разливок. Все варианты опытов ставились в трехкратной повторности. Влажность песка поддерживалась 60% от полной влагоемкости. Анализы культур производились через 7, 14, 28, 56 дней после посева, причем определялось: 1) общее количество бактерий при посеве на МПА, а также количество спорообразующих и неспорообразующих форм; 2) количество вегетативных клеток спорообразующих бактерий и спор (при посеве пастеризованной при 70—80° в течение 10 минут почвенной взвеси) на среде МПА с суслом; 3) видовой состав бактерий; 4) pH.

Результаты исследований

Результаты анализов проведенных исследований сведены в табл. 1—6.

Приведенные данные показывают, что при использовании различных органических веществ во все сроки анализов особенно энергично размно-

Таблица 1

Количество спорообразующих и не образующих споры бактерий на белковых веществах

(В миллионах на 1 г песку)

Срок учета в днях	Бактерии	Казеин	Пептон	Яичный альбумин	Кровяная мука
0	Исходное количество	0,005	0,004	0,005	0,008
	Спорообразующих	0,002	0,002	0,002	0,003
	Не образующих споры	0,003	0,002	0,003	0,005
7	Общее количество	27,5	10,82	11,25	6,12
	Спорообразующих	0,2	5,82	1,25	1,0
	Не образующих споры	27,3	5,0	10,0	5,12
14	Общее количество	17,5	6,5	7,7	10,0
	Спорообразующих	0,5	4,0	0,7	2,0
	Не образующих споры	17,0	2,5	7,0	8,0

Примечание. В табл. 1—6 приведены данные анализов только двух сроков — через 7 и 14 дней после начала опыта, так как результаты анализов в более поздние сроки были одного порядка.

Таблица 2

Количество спорообразующих и не образующих споры бактерий на аминокислотах и амидах

(В миллионах на 1 г песку)

Срок учета в днях	Бактерии	Аланин	Гликоколь	Лейцин	Глютаминовая кислота	Гистидин	Аспарагин	Мочевина
0	Исходное количество	0,009	0,009	0,009	0,008	0,009	0,009	0,009
	Спорообразующих	0,004	0,004	0,004	0,003	0,004	0,004	0,004
	Не образующих споры	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
7	Общее количество	19,0	1,0	2,095	9,7	10,8	24,15	2,8
	Спорообразующих	0,1	0	0,5	0,7	0,7	0,05	0
	Не образующих споры	8,9	1,0	1,595	9,0	10,1	24,1	2,8
14	Общее количество	15,57	2,5	3,1	4,65	7,65	9,5	2,25
	Спорообразующих	0,17	0	1,1	1,65	0,65	0,08	0
	Не образующих споры	15,4	2,5	2,0	3,0	7,0	9,42	2,25

Таблица 3

Соотношение спорообразующих и не образующих споры бактерий на различных углеродистых соединениях

(В миллионах на 1 г песку)

Срок учета в днях	Бактерии	Арабиноза	Сахароза	Крахмал	Клетчатка	Органические кислоты			
						яблочная	винная	янтарная	гуминовая
0	Исходное количество	0,008	0,008	0,009	0,009	0,008	0,008	0,008	0,008
	Спорообразующих	0,003	0,003	0,004	0,004	0,003	0,003	0,003	0,003
	Не образующих споры	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
7	Общее количество	19,6	18,5	5,5	0,62	2,5	3,7	3,5	1,0
	Спорообразующих	2,5	0,75	0,1	0	0,08	0,075	0,05	0,2
	Не образующих споры	17,1	17,75	5,4	0,62	2,42	3,675	3,45	0,8
14	Общее количество	6,4	5,4	5,7	0,75	3,78	2,57	2,45	1,15
	Спорообразующих	4,0	2,0	0,2	0,04	0,18	0,17	0,15	0,34
	Не образующих споры	2,4	3,4	5,5	0,71	3,6	2,4	2,3	0,81

жались не образующие споры виды бактерий, представители родов Pseudomonas, Achromobacter, Chromobacterium, Flavobacterium, Mycobacterium, Micrococcus.

Не образующие споры формы обильно развивались на всех соединениях, взятых при исследовании и составляли основную массу бактериальной флоры (табл. 1, 2, 3 и 4).

Размножение спорообразующих бактерий наблюдалось в более поздние стадии распада органических веществ и не на всех соединениях. Так, на некоторых соединениях, как отдельные аминокислоты, амиды, спороносные бактерии развивались в незначительном количестве; слабо использовались бактериями крахмал, органические кислоты. Массовое появление спорообразующих бактерий наблюдалось на естественных субстратах,

Таблица 4

Количество спорообразующих и не образующих споры бактерий на естественных субстратах

(В миллионах на 1 г песку)

Срок учета в днях	Бактерии	Мука		Бактериальная масса		Мицелий грибов	Пектин	Солома ржаная	Клевер сено	Дернина луговая
		пшеничная	горохо-вая	спорообр.	не обр. споры					
0	Исходное количество	0,005	0,005	0,004	0,004	0,004	0,009	0,008	0,008	0,008
	Спорообразующих	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,004	0,003	0,003	0,003
	Не образующих споры	0,003	0,003	0,002	0,002	0,002	0,005	0,005	0,005	0,005
7	Общее количество	7,54	9,82	7,9	7,0	7,4	3,9	5,2	1,01	3,76
	Спорообразующих	2,5	0,82	0,5	2,0	2,4	2,0	2,0	0,21	1,22
	Не образующих споры	5,04	9,0	7,4	5,0	5,0	1,9	3,2	0,8	2,54
14	Общее количество	3,65	4,3	11,0	6,0	5,0	12,5	4,52	4,54	2,25
	Спорообразующих	2,85	2,8	2,2	3,5	3,0	2,5	2,66	1,0	1,25
	Не образующих споры	0,8	1,5	8,8	2,5	2,0	10,0	1,86	3,54	1,0

Таблица 5

Количество вегетативных клеток спорообразующих бактерий на разнообразных соединениях

(В процентах к общему числу бактерий)

Срок учета в днях	Мука пшеничная	Мука горохо-вая	Бактериальная масса		Мицелий грибов	Пектин	Солома ржаная	Клевер сено	Дернина луговая
			спорообразующих	не образующих споры					
7	45,0	8,3	6,3	28,5	32,4	51,3	38,4	20,7	32,4
14	78,0	64,9	22,0	58,3	60,0	20,0	58,6	22,2	55,5

	Казеин	Пептон	Альбумин яичный	Кровяная мука	Арабиноза	Сахароза	Крахмал	Клетчатка
7	0,72	53,8	11,1	16,3	12,7	4,2	1,8	0
14	2,8	61,5	7,7	20,0	62,5	35,2	3,5	5,4

	Органические кислоты				Аланин	Гликоколь	Лейцин	Глютаминовая кислота	Гистидин	Аспарагин
	яблочная	винная	янтарная	гуминовая						
7	3,2	2,0	1,4	20,0	0,52	0	24,0	7,2	7,4	0,21
14	4,8	6,6	6,1	28,5	1,09	0	35,4	35,4	8,5	0,84

богатых сложными азотсодержащими соединениями (пептон, мука пшеничная, бактериальная масса, мицелий грибов и пр.). На упомянутых соединениях происходило быстрое и обильное развитие спорообразующих бактерий даже в начальные периоды их развития. Количество вегетатив-

ных клеток споровых бактерий на естественных субстратах было значительно выше, чем на других органических соединениях, взятых при исследовании (табл. 5).

В одной из предыдущих работ [8] мы показали, что спорообразующие бактерии совершенно не усваивали лигнин и клетчатку соединения, составляющие основную часть клеточных стенок растений и в большом количестве попадающие в почву, а также вещества с более сложной структурой, как гуминовая кислота, пектин и др.

В условиях смешанной культуры (в присутствии неспороносных бактерий) спорообразующие бактерии использовали большее количество органических соединений и развивались на субстратах с добавлением в качестве источника углерода гуминовой кислоты, клетчатки, пектина, т. е. на таких соединениях, которые чистыми культурами спорообразующих бактерий не усваивались.

Благодаря более быстрому размножению не образующих споры бактерий гидролитическое действие их на субстрат может быть более быстрым и энергичным. В результате своей жизнедеятельности не образующие споры бактерии и другие микроорганизмы могут обогащать субстрат белком, витаминами, а также более простыми соединениями, доступными для спорообразующих бактерий. Вышеуказанным возможно объяснить и более позднее появление спорообразующих бактерий при разложении органических веществ.

Аммонифицирующая способность некоторых видов спорообразующих бактерий (по данным Тимофеевой [8]) обусловливалась природой азотсодержащего органического соединения. Энергичная аммонификация органических соединений спорообразующими бактериями наблюдалась только при содержании в среде более доступных для бактерий форм азота. Наибольшее количество аммиака выделялось при развитии бактерий на гидролизате казеина и на мочевине. Разложение других органических азотсодержащих соединений протекало более медленно и сопровождалось меньшим выделением аммиака (табл. 6).

Таблица 6

Образование аммиака спорообразующими бактериями на разных источниках азота

Вид бактерий	Азот аммиака в мг на 100 мл среды			
	эдестин	пептон	гидролизат казеина	м очевина
Контроль	2,4	2,24	12,54	3,36
Bac. cereus	12,6	15,7	42,0	14,2
Bac. mycoides	13,5	15,2	42,2	—*
Bac. megatherium	8,2	13,5	38,6	32,4
Bac. mesentericus	11,7	10,6	30,7	27,6
Bac. subtilis	11,5	8,7	25,0	25,0

* Анализ не производился.

Таким образом, устанавливается, что спорообразующие бактерии потребляют (минерализуют) более переработанные другими микроорганизмами органические соединения.

Наши исследования [8] показали, что при разложении органических соединений развитие спорообразующих бактерий на известном этапе приостанавливается раньше, чем источники питания используются бактериями.

Можно предположить, что причиной, весьма ограничивающей рост и деятельность спорообразующих бактерий, является переход их в покоящуюся стадию. По литературным данным, на процесс спорообразования

могут влиять различные условия среды, в том числе и продукты обмена, которые могут препятствовать дальнейшему прорастанию спор. На известном этапе (при определенных условиях) рост бактерий задерживается.

Приведенными исследованиями установлено, что спорообразующие бактерии весьма чувствительны к составу питательного субстрата (по сравнению с неспороносными бактериями) и развиваются в большом количестве только при наличии подходящих источников азота и углерода. Так как содержание, состав и свойства органической части почв весьма различны (Тюрин [9, 10]; Кононова [2]), можно полагать, что появление спорообразующих группировок в почве обусловливается составом органических веществ почвы.

Полученные данные до некоторой степени выясняют роль бактерий в процессе минерализации. Ограниченная возможность использования химических соединений, составляющих основную массу растительных остатков и входящих в состав гумуса (целлюлоза, лигнин и пр.), указывает до некоторой степени на второстепенную роль спорообразующих бактерий при разложении сложных органических соединений.

Проведенные исследования в известной мере выясняют поведение двух ассоциаций бактерий спороносных и неспороносных при совместном развитии их в среде. Для более подробного освещения характера взаимоотношений между указанными группами бактерий необходимы дальнейшие исследования.

В заключение приношу глубокую благодарность профессору Е. Н. Мишустину за ценные указания и советы при выполнении работы.

Выводы

1. При распаде сложных органических веществ в условиях песчаных культур преобладали не образующие спор бактерии; они обильно развивались на всех соединениях, взятых при исследовании, и составляли основную массу бактериальной флоры.

Можно полагать, что неспороносные бактерии являются более энергичными минерализаторами органических веществ в почве.

2. Спорообразующие бактерии почвы по своим биохимическим свойствам более требовательны к составу питательной среды (по сравнению с не образующими споры бактериями) и развиваются в большом количестве и быстрее только при наличии в субстрате сложного азотного питания (смеси аминокислот).

3. Спорообразующие бактерии становятся доминирующими формами на более поздних стадиях минерализации органических веществ.

4. В смешанной культуре (в присутствии не образующих споры бактерий) спорообразующие бактерии использовали большее количество органических соединений и развивались на пектине, клетчатке, гуминовой кислоте, в то время как чистыми культурами указанные соединения не усваивались.

5. Проведенные исследования устанавливают определенную зависимость развития спорообразующих бактерий от химического состава субстрата и позволяют объяснить наблюдающиеся различия их состава в почве.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 28.I.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Береснева В. Н. Разложение белкового вещества зимогенной микрофлорой. Микробиология, X, вып. 1, 1941.
2. Кононова М. М. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения. Изд. АН СССР. Москва, 1951.

3. Красильников Н. А. и Никитина Н. И. Влияние разлагающихся корней на состав микрофлоры в почве. Почвоведение, № 2, 1945.
4. Мишустин Е. Н. О роли спороносных бактерий в почвенных процессах. Микробиология, XVII, вып. 3, 1948.
5. Мишустин Е. Н. Учение Докучаева — Костычева — Вильямса о почве и вопрос о составе микроорганизмов в растительных формациях. Микробиология, XIX, вып. 1, 1950.
6. Мишустин Е. Н. и Тимофеева А. Г. Смена микрофлоры в процессе разложения органических остатков. Микробиология, XIII, вып. 6, 1944.
7. Теппер Е. З. Участие микроорганизмов в аэробном разложении яровой соломы и образование при этом гумусоподобных веществ. Почвоведение, № 3, 1949.
8. Тимофеева А. Г. Азотное и углеродное питание спорообразующих бактерий. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, том III, 1954.
9. Тюрин И. В. Органическое вещество почв. Сельхозгиз. 1937.
10. Тюрин И. В. Из результатов работ по изучению состава гумуса в почвах СССР. Проблемы советского почвоведения. Сб. № 11, 1940.
11. Conn H. J. Are spore forming bacteria of any significance in soil under normal conditions? N. Y., Agr. Exp. Sta. Techn. Bull. No. 51, 1916.
12. Conn N. J. Soil flora studies III. Sporeforming bacteria in soil. N. Y. Agr. Exp. Sta. Techn. Bull. No. 58, 1917.
13. Conn N. J. a. Joffe J. Factors influencing the activity of sporeforming bacteria in soil. N. Y. Agr. Exp. Sta. Techn. Bull. No. 97, 1923.
14. Den Dooren de Jong L. Some observations on the bacteria acting in the decomposition of organic matter in soil. Z. Bakt., II Abt., 71, 193, 1927.

ЯВЛЯЮТСЯ ЛИ ДРОЖЖЕВЫЕ ОРГАНИЗМЫ ОБИТАТЕЛЯМИ МОРЕЙ И ОКЕАНОВ?

А. Е. Крисс и *М. И. Новожилова*

Исследования, проведенные в Черном море (Крисс, Рукина и Тихоненко [6]; Рукина и Новожилова [10]), позволили утвердительно ответить на этот вопрос. Дрожжевые организмы были найдены не только в прибрежной зоне, но и на станциях, расположенных в 30—50—60 милях от берега. Они встречались в поверхностных и глубинных слоях кислородной и сероводородной зон Черного моря. В числе проб воды с положительными результатами посева на сусловые среды были пробы с горизонтов 700, 1000, 1250 и 1750 м, т. е. дрожжи обнаруживались на значительных глубинах от нижней границы растительного и животного планктона, которая, как известно, проходит на глубине 150—200 м от поверхности моря. Одни и те же виды встречались на большом расстоянии друг от друга как по горизонтали, так и по вертикали. Существенно также и то обстоятельство, что почкующиеся дрожжи можно было наблюдать при прямой микроскопии проб воды также и с горизонтов 1500, 1750, 2000 м.

Однако, учитывая близость микробиологических станций, где были обнаружены дрожжевые организмы, к южному побережью Крымского полуострова, богатого виноградниками, не исключалась полностью возможность, что встреченные и на больших глубинах Черного моря дрожжи являются случайно уцелевшими формами, попавшими с суши, а отнюдь не обитателями моря. Чтобы рассеять эти сомнения, были предприняты широкие исследования для выяснения распространенности дрожжей в различных морях и океане и их способности к размножению в условиях, близких к натуральным в глубинах морских водоемов. В Черном море на семи станциях, в глубоководной части Охотского моря и прилегающем районе Тихого океана — на 15 станциях, в 1951 г. были сделаны вертикальные разрезы до дна и взяты пробы воды батометром типа Нансена с глубин: 0, 10, 20, 25, 35, 37, 50, 75, 100, 125, 150, 175; 200, 225; 250, 300, 400, 500, 600, 750, 1000, 1075, 1200, 1250, 1500, 1750, 2000, 2500, 2600, 3000, 3100, 3300, 4000, 4800 м.

Подавляющее большинство станций в Черном, Охотском морях и Тихом океане располагались над большими глубинами в открытой части водоемов на расстоянии 60—140 миль от островов или материка.

На некоторых станциях исследовались уловы планктона, собранные сеткой Джеди из слоев воды: 0—10, 10—25, 25—50, 50—75, 75—100, 100—125, 125—150, 150—175, 175—200, 200—500, 500—1000, 1000—2000 м, а также поверхностные слои ила, извлеченного дночерпателем «Океан» или прямоточной трубкой.

Пробы воды для микробиологического анализа отбирались из батометра в стерильную посуду после того, как основательно прожигался (обычно паяльной лампой) кран батометра и спускались первые струи воды. Из стакана планктонной сети нужный объем воды отсасывался стерильной пипеткой.

Отобранные пробы воды и ила тотчас же засевались в специально устраиваемых на судах микробиологических лабораториях на сусловые и мясо-пептонные среды, приготовленные на водопроводной или морской воде. Посевы воды на сусло-агар и мясо-пептонный агар производились

тремя способами. Первый способ заключался в фильтрации 35—40 мл воды через мембранный ультрафильтр, который затем с осевшими на его поверхности микробными клетками накладывался тыльной стороной на поверхность агаровой среды для проращивания. Фильтрация воды происходила в аппарате Зейца, части которого предварительно прожигались над пламенем. Второй способ сводился к смешиванию 0,5 мл воды с расплавленной и остуженной примерно до 45° агаровой средой и третий — к растиранию шпателем 0,5 мл воды по поверхности застывшей в чашке Петри агаровой среды. Через 3—5 дней инкубации при 18—26° выросшие колонии дрожжей отвивались в пробирки со скошенным сусло-агаром. В жидкие среды проба воды непосредственно наливалась в количестве нескольких миллилитров или предварительно фильтровалась (10 мл) через мембранный ультрафильтр, который затем опускался в жидкую среду. Выделение культур дрожжей производилось путем высева на плотные среды.

Сравнительные исследования показали, что часто дрожжи выделялись на одной среде и одним методом и не обнаруживались на другой среде и другим методом, поэтому для их выделения следует применять различные среды и методы.

Параллельно с методами культивирования пробы воды исследовались также методом прямой микроскопии. Для этой цели 20—30 мл воды профильтровывались через мембранные ультрафильтры, приготовленные по методу Рукиной и Бирюзовой [9]. После фильтрации ультрафильтр фиксировался в парах формалина, окрашивался карболовым эритрозином, высушивался и просветлялся в канадском бальзаме. Микроскопировалась вся поверхность фильтра.

Количественное распределение дрожжевых организмов в водной толще Черного, Охотского морей и Тихого океана

Всего было исследовано на присутствие дрожжей 340 проб воды. В табл. 1 и 1а приведены данные о количестве дрожжевых клеток в воде Черного, Охотского морей и Тихого океана, определенном методами счета колоний и прямой микроскопии. В пересчете на 1 л воды число клеток дрожжей (по числу колоний) выражается обычно десятками и сотнями. Лишь единичные пробы воды содержали свыше 1000 клеток на 1 л воды.

Необходимо отметить, что не из всех проб воды удалось получить на лабораторных средах колонии дрожжей, а только в 23% от всего числа проб. Из 10 проб поверхностного ила, взятых с больших глубин Охотского моря и Тихого океана, лишь в одной были обнаружены дрожжи.

Если сравнить эти данные с данными определения числа бактериальных организмов, образующих колонии на мясо-пептонном и рыбо-пептонном агаре, которые проводились на тех же станциях в Охотском море и Тихом океане (Крисс, Рукина и Новожилова [5], табл. 3, рис. 1), то выясняется следующее обстоятельство. Порядок цифр, выражающих количество бактерий по числу выросших колоний, тот же, что и для дрожжей. Так же, как и дрожжи, гетеротрофные бактерии, образующие колонии на МПА и РПА, насчитывались в десятках и сотнях и значительно реже в тысячах на литр воды. По частоте обнаружения при помощи лабораторных сред в пробах воды Охотского моря и Тихого океана бактерии превосходили дрожжевые организмы. Из 216 проб воды, исследованных на присутствие дрожжей, последние были выявлены в 30 пробах, или в 14%, тогда как бактерии обнаружены в 75 пробах из 131, т. е. в 57%.

Мы не встретили в литературе цифровых соотношений в почвах между дрожжевыми организмами и бактериями, способными размножаться на сложных органических субстратах. Но, судя по нашим наблюдениям,

Таблица 1

Количественное распределение дрожжевых организмов в водной толще Черного, Охотского морей и Тихого океана (по счету колоний)

Глубина в м	Станция						
	1	2	3	4	5	6	7
	Черное море						
0	114	29	29	0	57	114	1368
10	0	143	2081	0	0	0	0
20							
25	143	57	0	0	0	0	86
35							
37	57	0	0	29	143	29	0
50	29	0	0	0	0	0	0
60							
70	0						
75		29	29	0	0	29	29
100		86	0	0	29	0	0
125		29	29	0	0	0	57
150		86	0	29	0	0	57
175		114	0	0	29	0	0
200		57	29	57	171	0	0
225		0	0	0	0	0	0
250		0	0	0	29	29	29
300		0	57	57	0	0	29
400							
500		86	29	29	0	0	
600							
750		0	0	0	0	0	
1000		542	0	0	0	0	
1075							
1200							
1250		29	0	0	29	0	
1500		0	29	0	0	0	
1750		57	0	0	0	0	
2000		0	0	29	29		
2500							
2600							
3000							
3100							
3300							
4000							
4800							

Таблица 1 (продолжение)

Глубина в м	Станция														
	1	5	6	9	10	14	15	16	19	20	23	24	25	26	31
	Охотское море и Тихий океан														
0	743	0	0	0		86	32	0	64		28	28	114	0	0
10	0	0	0	0	0	0	28	0	171	0	0	0	0	0	0
20															
25	114	0	0	0		0	0	0	0	0	28	0			0
35	0	0	0	0		0	0	0	0	114	0	0	0	0	
37															
50	0	29	0	0		0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
60						0									
70															
75	0	0	0	0			0	0	0	0		0	0	0	0
100	0	0	0	0	29		0	0	0	0		0	0	0	0
125															
150	0	0	0	0			0	0	28	0		0	0	0	28
175															
200	0	0	0	0			0	0	0	0		0	0	0	0
225															
250		0	0	0			0	0	0	0			0	0	86
300	0	0	0	32	0		0	0	0	0			0	0	86
400		0	0	0			387	0	0	0			0	28	
500	0	0	0	0			0	28	0	0			0	0	0
600		0	0	0			0	0	0	0			0		0
750	0	0	0	0			57	0	0	0			0	0	28
1000	0	0	0	0				0					0	28	0
1075									28	0					
1200															
1250															
1500	0	0	0	0									0	0	0
1750															
2000		0	0	0									0	0	
2500	0	0	0	4710									0	0	
2600													0	0	
3000		0	0												
3100		0													
3300														57	
4000			0												
4800			0												

Примечание. Цифры выражают число дрожжевых клеток в пересчете на литр воды.

Таблица 1а

Количественное распределение дрожжевых организмов в водной толще Черного, Охотского морей и Тихого океана (по прямому счету)

Глубина в м	Станция						
	1	2	3	4	5	6	7
			Черное море				
0	100	150	400	150	100	0	0
10	50	300	0	0	0	50	0
20							
25	200	0	21800	100	50	50	0
35							
37	50	300	550	50	50	50	0
50	150	150	2150	0	50	0	50
60							
70	50						
75		50	50	0	0	150	0
100		0	0	0	0	0	50
125		0	0	50	0	0	0
150		0	0	50	100	0	50
175		150	0	50	0	0	0
200		0	50	50	50	0	0
225		50	0	0	50	0	550
250		50	0	100	150	0	0
300		0	50	0	0	50	0
400							
500		100	50	0	0	200	
600							
750		150	0	0	100	50	
1000		100	100	100	0	50	
1075							
1200							
1250		50	300	100	50	250	
1500		50	50	100	0	350	
1750		0	200	150	150	100	
2000		0	150	350	0		
2500							
2600							
3000							
3100							
3300							
4000							
4800							

Таблица 1а (продолжение)

Глубина в м	Станция												
	1	5	6	9	14	15	16	19	20	23	24	25	26
	Охотское море и Тихий океан												
0	1000	67	0	0	0	0		100		0	100	0	0
10	400	0	100	0	0	0	100	100	100	0	200	0	200
20	200												
25	100	200	0	50	100	0	0	50	0	100	0		100
35	200	0	33	0	0	0	67	100	0	0	0	100	50
37													
50	50	0	0	0	33	67	50	0	0	0	0	0	33
60					0								
70													
75	0	67	0	0		133	0	0	33		0	0	0
100	0	67	0	0		33	33	33	0		100	0	0
125													
150	100	0	0	0		0	0	0	0		0	0	0
175													
200	0	0	0	33		0	0	0	0		0	0	100
225													
250		0	0	0		0	0	0	0			0	0
300	100	33	0	33		0	0	0	0			50	33
400		0	0	0		33	0	0	0			0	0
500	50	33	0	33		0	0	33	0			100	0
600		0	0	0		0	0	0	0			0	
750	0	33	0	0		0	0	0	0			50	33
1000	50	100	0	0			33					0	67
1075								0	0				
1200							0						
1250													
1500	50	0	0	0								0	0
1750													
2000		0	0	0								0	0
2500		0	0	2533								50	0
2600												0	0
3000		67	0										
3100		0											
3300													
4000			67										
4800			0										

процент колоний дрожжей в почвах по отношению к колониям бактерий меньше, чем в морских водоемах. Складывается впечатление, что автолизирующиеся остатки животных и растений, находящиеся на первых ступенях разложения, могут служить в морях и океанах доступным органическим веществом не только для бактерий, развивающихся на мясо-пептонных средах, но в известной мере и для дрожжевых организмов.

Методом прямой микроскопии дрожжевые организмы были обнаружены в значительно большем числе проб, чем методами культивирования: из 321 пробы в 135, т. е. в 42%. Обычно количество дрожжей, открываемое в пробах морской воды прямой микроскопией, было больше, чем определенное методом счета колоний, однако различие в этих случаях не столь велико, как в отношении бактерий в незагрязненных водах. Как известно, в таких водах прямым счетом обнаруживается в 100 и 1000 раз больше бактериальных клеток, чем методами культивирования. В загрязненных водах, содержащих значительные концентрации легко доступного органического вещества, числа бактерий, определяемые обоими методами (Разумов [7]), сравнительно мало отличаются друг от друга. Можно полагать, что дрожжевые организмы в морских водоемах в основном — гетеротрофы, использующие легко усвояемое органическое вещество, и этим объясняется отсутствие резких различий в данных прямого счета и метода счета колоний.

Характерным в распространении дрожжей в морских водоемах является микрозональность, неравномерность в их распределении, вызванная, повидимому, аналогичным распределением доступного органического вещества (Крисс, Рукина и Бирюзова [4]). Микрозональностью, повидимому, вызывается в ряде случаев несовпадение результатов исследования одной и той же батометрической или сетяной пробы воды различными методами или даже одним и тем же методом. Однако, наряду с микрозональностью, выявляется заметно выраженная макрозональность в их распространении. Так, во внутриконтинентальном водоеме, каким является Черное море, дрожжи обнаружены методом счета колонии в 40% проб, методом прямой микроскопии в 56%, а в Охотском море и Тихом океане по выросшим колониям — в 14%, а на ультрафильтрах — в 30% проб. Как правило, количество дрожжевых организмов и частота встречаемости их больше в прибрежных районах, а в открытой части морей — в поверхностных слоях.

Необходимо обратить внимание на то, что дрожжи встречались на значительных глубинах вдалеке от берегов. На ряде станций в Черном, Охотском морях и Тихом океане они обнаружены глубже 1000 м. Особо интересной является находка большого количества дрожжевых организмов различных видов на глубине 2500 м в Тихом океане (станция 9). На ультрафильтрах диаметром 3,5 см, которые проращивались на сусло-агаре и мясо-пептонном агаре, выросло свыше 200 колоний. В пересчете на литр воды это составляет более 4000 дрожжевых клеток. Прямой микроскопией в этой пробе воды обнаружено 2500 клеток дрожжей в пересчете на литр воды.

По табл. 1 и 1а можно судить о том, что в Черном море много глубже нижней границы фито- и зоопланктона (200 м) не редки случаи выявления дрожжевых организмов и в относительно большом числе. Методами культивирования они выделены на глубинах 1000, 1250, 1500, 1750, 2000 м, т. е. на максимальных глубинах сероводородной области Черного моря, где наиболее значительны концентрации сероводорода.

Совершенно очевидно, что планктоносфера (Крисс и Рукина [3]) является местом наибольшей плотности дрожжевого населения морей. В уловах планктона из Черного моря дрожжи были обнаружены в 90% проб, в Охотском море и Тихом океане из 70 сетяных сборов — в 33, т. е. в 50% проб.

Видовой состав и ареалы дрожжевых организмов в Черном, Охотском морях и в Тихом океане

Общее число культур дрожжевых организмов, выделенных с различных глубин Черного и Охотского морей и Тихого океана, составило 525. Все они, учитывая отсутствие спорообразования при посеве на среду Городковой, МПА и гипсовые блоки, оказались аспорогенными дрожжа-

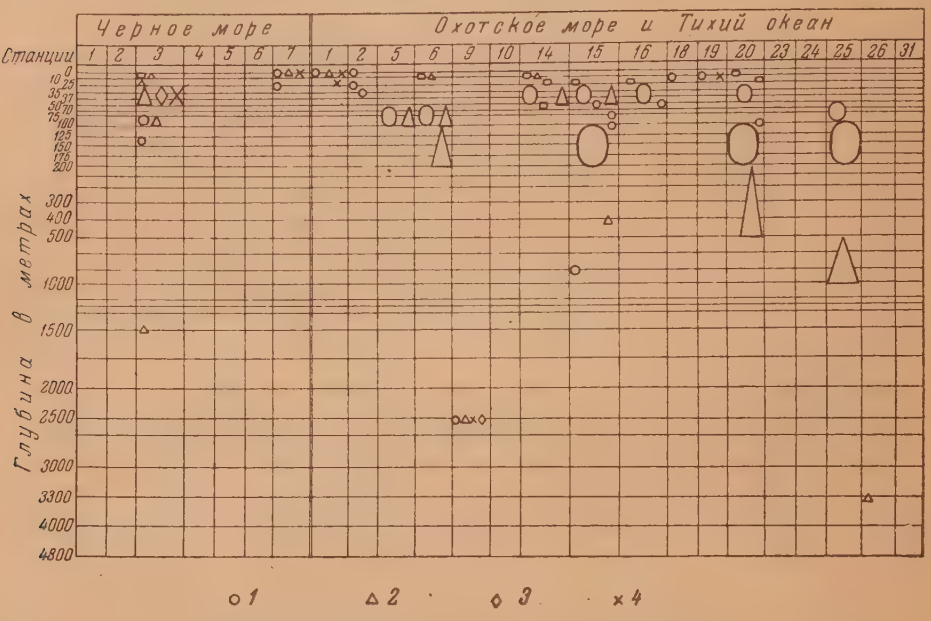

Рис. 1. Распространение Torulopsis candida в морских водоемах

1 — штамм А, *2* — штамм В, *3* — штамм С, *4* — штамм D

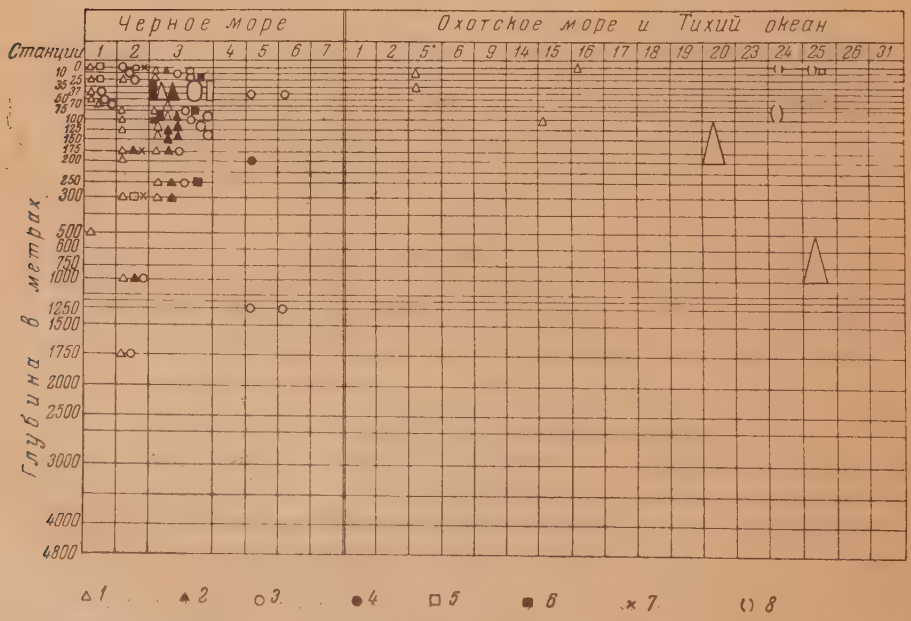

Рис. 2. Распространение Sporobolomyces salmonicolor в морских водоемах

1 — штамм А, *2* — штамм В, *3* — штамм С, *4* — штамм D, *5* — штамм Е, *6* — штамм F, *7* — штамм G, *8* — штамм Н

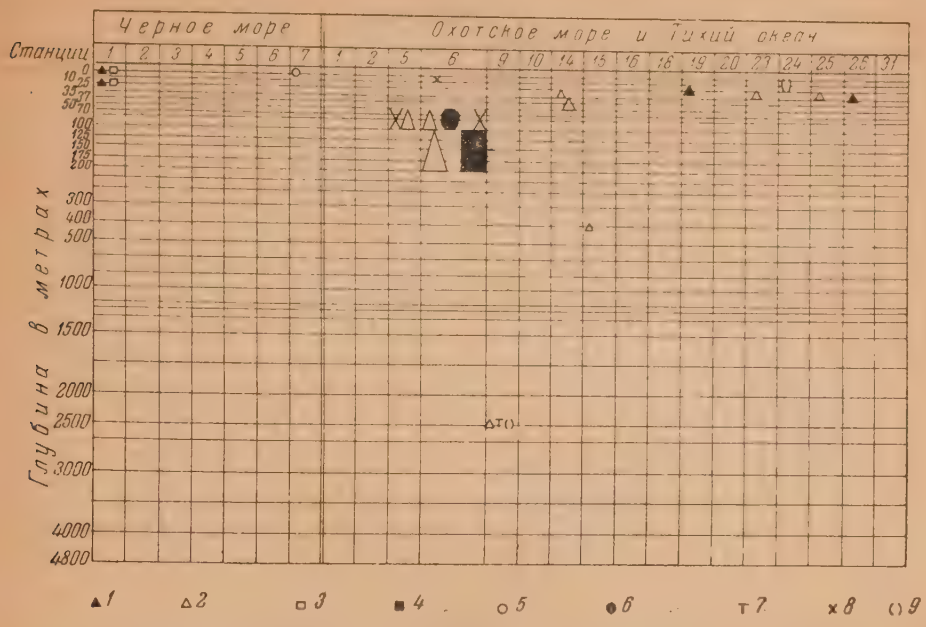

Рис. 3. Распространение Toluropsis pulcherrima в морских водоемах

1 — штамм A, *2* — штамм B, *3* — штамм C, *4* — штамм D, *5* — штамм E, *6* — штамм F, *7* — штамм G, *8* — штамм H, *9* — штамм I

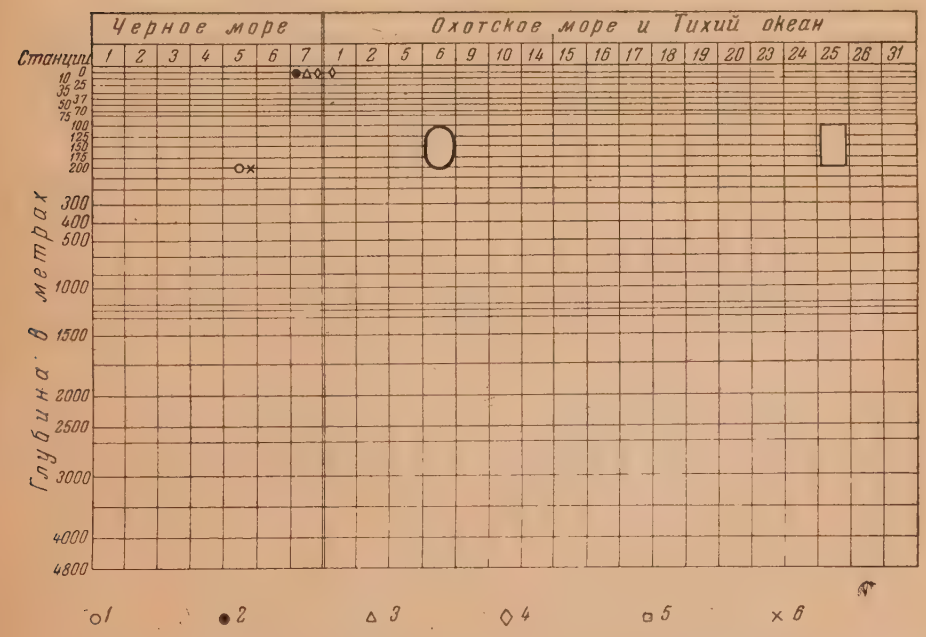

Рис. 4. Распространение Rhodotorula colostri в морских водоемах

1 — штамм A, *2* — штамм B, *3* — штамм C, *4* — штамм D, *5* — штамм E, *6* — штамм F

ми. Видовая характеристика их производилась согласно требованиям определителя (Лоддер — Lodder [12]). Необходимо отметить, что определения дрожжей по этому определителю весьма приблизительны. Большинство морских дрожжей отличались от описанных в определителе видов, но, чтобы не создавать искусственно новые виды, мы условно сближали выделенные формы с видами, имеющими близкие морфологические,

культуральные и физиологические черты, рассматривая морские дрожжи как разновидности соответствующих видов в определителе Лоддер.

За исключением небольшой части дрожжеподобных организмов, образующих выраженный мицелий, основная масса дрожжей относилась к родам Torulopsis, Rhodotorula, Sporobolomyces. Неокрашенные формы были сближены с видами: Torulopsis neoformans (разновидности A, B), T. Laurentii, T. lipofera (разновидности A, B), T. candida (разновидности A, B, C, D), T. luteola (разновидности A, B, C, D, E, F, G, H), T. pulcherrima (разновидности A, B, C, D, E, F, G, H, J), T. aeria (разновидности A, B, C, D, E, F, G) и T. minor (разновидности A, B). Пигментированные формы отнесены к видам: Rhodotorula glutinis var. infirmo-miniata (разновидности A, B, C, D, E, F, G, H, J, K, L, M, N; O), Rh. colostri (разновидности A, B, C, D, E, F), Rh. glutinis var. rubescens (разновидности A, B, C, D), Rh. pallida, Rh. mucilaginosa (разновидности A, B, C, D, E, F, G, H, J, K), Rh. aurea (разновидности A, B, C, D, E, F, G), Sporobolomyces salmonicolor (разновидности A, B, C, D, E, F, G, H), Sp. holsaticus.

Поскольку изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств выделенных культур проводилось на всех этапах в плане сопоставления их друг с другом, оказалось возможным сближение и идентификация дрожжевых организмов непосредственно в процессе исследования их особенностей, а не по определителю. Этот метод, а также точное знание места выделения каждой культуры позволили установить ареалы для всех разновидностей, составивших нашу коллекцию морских дрожжей.

В качестве примеров здесь приводятся рис. 1, 2, 3, 4, характеризующие распространение некоторых видов дрожжей в водной массе Черного, Охотского морей и Тихого океана. Рис. 1 позволяет судить о распространенности отдельных штаммов Torulopsis candida. Ареалы разновидностей A и B этого вида (отмечены кружком и треугольником) охватывают столь далеко расположенные географически друг от друга моря, как Черное и Охотское, с прилегающим районом Тихого океана. Штаммы A и B Torulopsis candida встречались не только в поверхностных слоях этих морей, но и на больших глубинах водной толщи — 1500, 2500, 3300 м и в грунте.

Виды Sporobolomyces salmonicolor и Torulopsis pulcherrima, наоборот, имеют географически ограниченные ареалы. Из восьми разновидностей Sp. salmonicolor шесть обнаружены лишь в Черном море (рис. 2), где они заселяют всю водную толщу кислородной и сероводородной зон до максимальных глубин — 1750 м. В Охотском море и соседнем районе Тихого океана найдены только две разновидности этого вида и в редких местах. Вид Torulopsis pulcherrima — в основном обитатель Охотского моря и Тихого океана (рис. 3); в Черном море он встречен на двух станциях у поверхности моря. Все эти три вида сравнительно широко распространены в обследованных морских водоемах. В качестве примера редкой встречаемости можно отметить вид Rhodotorula colostri. Его шесть разновидностей выделены из единичных проб воды, взятых на небольших глубинах морей (рис. 4).

Находят ли дрожжевые организмы необходимые им условия для жизнедеятельности в морских глубинах?

Широкая распространенность дрожжевых организмов в морских водоемах не только в поверхностных слоях, но и на больших глубинах приводит к убеждению, что море с его спецификой как среды существования — низкие температуры, высокие давления, характерный солевой состав воды, бедность органическим веществом, малое содержание кислорода, разреженность флоры и фауны — не препятствует жизнедеятельности многих видов дрожжей. И действительно, о способности дрожжей развиваться при низких температурах, значительной концентрации солей или в анаэробных условиях (как в сероводородной зоне Черного моря)

имеется немалое число указаний в литературе, и поэтому эти факторы не могут являться ограничивающими. Что касается высоких давлений, то

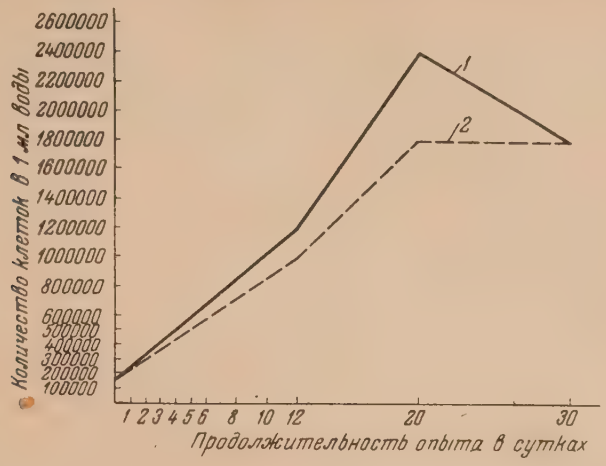

Рис. 5. Размножение Torulopsis candida, штамм В на морской воде

1 — на черноморской воде, *2* — на тихоокеанской воде

находки большого числа клеток дрожжей на больших глубинах (2500 м), а также обнаружение в пробах воды с горизонтов, где давление достигает нескольких сот атмосфер, при прямой микроскопии этих проб почкующихся форм дрожжей позволяет заключить, что ряд видов дрожжевых организмов, очевидно, приспосабливается к гидростатическому давлению в море даже на глубине в 2—3 и более километров.

Неясным казался вопрос,— находят ли дрожжи в собственно морской воде нужные им для жизнедеятельности концентрацию и формы органического вещества или обнаруженные в морях дрожжевые клетки являлись обитателями водной растительности или животных, где они только и могут находить необходимое питание. Хотя данные по Черному морю о присутствии дрожжей на горизонтах, расположенных на 1000, 1500 м глубже нижней границы фито- и зоопланктона, и разубеждали в том, что растительный и животный мир морских водоемов является единственной средой жизни для дрожжевых организмов в море, однако желательны были более прямые исследования, чтобы судить о питательности для дрожжей морской воды, освобожденной от планктона. Опыты в этом направлении были поставлены в следующем виде. Вода из открытых районов Черного моря и из Тихого океана, извлеченная батометром с глубины в несколько десятков метров, про-

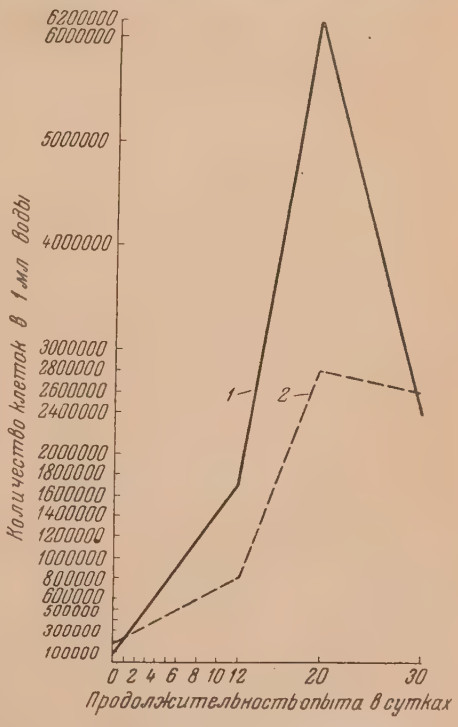

Рис. 6. Размножение Torulopsis pulcherrima, штамм С на морской воде

1 — на черноморской воде, *2* — на тихоокеанской воде

фильтровывалась через мембранные ультрафильтры для удаления всех взвешенных частиц, в том числе и бактерий, а затем разливалась по 10 мл в пробирки. Пробирки с черноморской и тихоокеанской водой стерилизовались при атмосфере, после чего засевались суспензией дрожжей в физиологическом растворе. Для приготовления суспензии петлей захватывалось небольшое количество дрожжевых клеток из двухсуточной культуры на сусло-агаре с таким расчетом, чтобы после внесения в физиологический

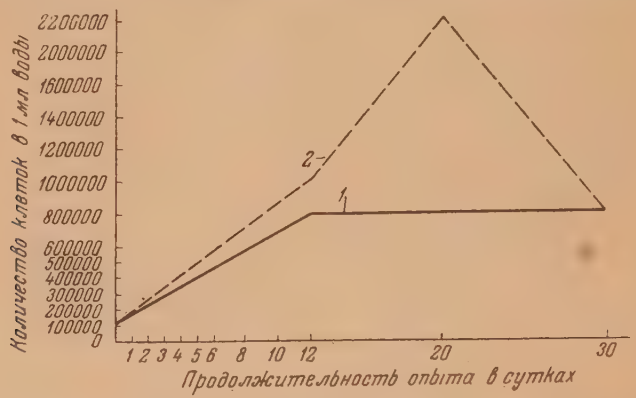

Рис. 7. Размножение Sporobolomyces salmonicolor, штамм Е на морской воде

1 — на черноморской воде, *2* — на тихоокеанской воде

раствор концентрация их не превышала 150—200 тыс. в 1 мл. В опыте участвовали 55 культур различных видов и разновидностей дрожжей, выделенных с разных глубин Черного, Охотского морей и Тихого океана.

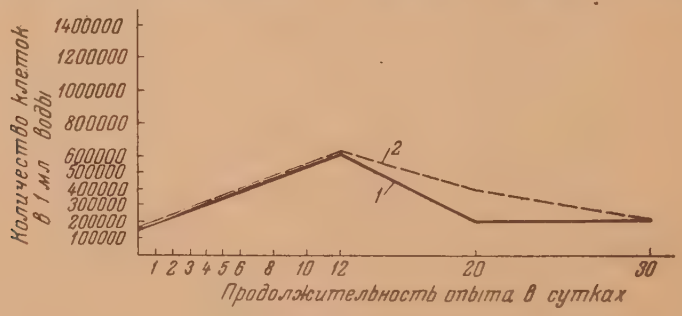

Рис. 8. Размножение Rhodotorula colostri, штамм D на морской воде

1 — на черноморской воде, *2* — на тихоокеанской воде

Пробирки выдерживались при комнатной температуре в течение месяца. Количество дрожжевых клеток подсчитывалось в камере Тома через каждые 10 дней.

В этой небольшой статье нет возможности привести весь фактический материал, и поэтому мы вынуждены ограничиться лишь четырьмя рисунками, показывающими результаты исследований в их разнообразии. На рис. 5 и 6 видно, что выделенные из моря дрожжевые организмы могут размножаться в натуральной [1] и морской воде довольно значительно, увеличивая свою биомассу в 15 и даже 40 раз. Первоначальная концентрация в 150 000 клеток в 1 мл морской воды достигла 2 500 000—6 000 000 в том же объеме. Однако не все культуры давали столь большую продукцию.

[1] Натуральной только в том смысле, что к ней не добавлялись питательные вещества; естественно, что она претерпела изменения, вызванные стерилизацией.

В среднем число дрожжевых клеток возрастало в 10—15 раз. Максимальная численность у большинства культур наблюдалась на 20-е сутки, реже на 12 и 30-е сутки, после чего часть клеток автолизировалась и количество их уменьшалось.

Обычно виды дрожжей, выделенные в Черном, Охотском морях и Тихом океане, накапливали примерно одинаковую биомассу на черноморской и тихоокеанской воде, но были случаи, когда одна и та же культура, независимо от места выделения, лучше размножалась на черноморской воде, чем на тихоокеанской (рис. 5) или, наоборот, лучше на тихоокеанской (рис. 7). Сопоставления показывают, что не соленость играет определяющей роли в этих случаях, а другие неучтенные факторы. Примером слабого размножения на морской воде является Rhodotorula colostri; число дрожжевых клеток возросло лишь в 4 раза (рис.8). Напомним, что находки этого вида были очень редки в обследованных морских водоемах, тогда как Torulopsis pulcherrima, T. candida, хорошо размножающиеся на морской воде, имели широкие ареалы в морях.

Следует отметить отчетливо выраженную денитрифицирующую способность у морских дрожжевых организмов. После засева на среду Гильтая многие из них восстанавливали нитраты до нитритов. Gräf (1909) выделил из Южно-китайского моря один вид дрожжей — денитрификаторов, который он назвал Torula denitrificans. Вполне очевидно, что дрожжевые организмы в морях могут использовать при недостатке кислорода в воде такие источники связанного кислорода, как нитраты. Что касается сульфатов, то специальные опыты с 47 культурами дрожжей из нашего морского музея, засеянными на среды ван-Дельдена и Таусона, дали отрицательные результаты в отношении их сульфатвосстанавливающей способности. Наблюдения велись в течение 5 месяцев. Предположения о неполноценности примененных сред отпадают, так как в контроле десульфурирующие бактерии хорошо развивались на этих средах.

Морские дрожжи как пища водных животных

Родина [8] установила в лабораторных опытах, что дрожжи Torula, Rhodotorula могут служить полноценной пищей для водных беспозвоночных. Сухие кормовые (гидролизатные) дрожжи с успехом были применены для питания личинок хирономид и олигохет (Константинов [1]; Константинов [2]).

В наших экспериментах испытывались пищевые качества морских дрожжей. Исследования проводились с неокрашенной формой — Torulopsis candida (штамм А) и окрашенной — Sporobolomyces salmonicolor (штамм А). Эти дрожжи выращивались на сусло-агаре в течение двух суток, затем снимались с агара и взвешенными порциями давались в пищу червю Nereis succinea, как известно, являющемуся массовой формой зообентоса в Азовском и Каспийском морях. Кормление червей дрожжами проводилось в небольших стеклянных сосудах типа чашек Коха. На дно их помещался прокаленный песок, и они заливались примерно наполовину каспийской водой. В каждом сосуде находилось 7 червей. Кормление производилось два и реже — один раз в сутки. Комочки дрожжей раскладывались пинцетом перед каждой норкой червя: черви обычно быстро выползали из своих норок и захватывали почти весь комочек целиком. В качестве контролей применялась растительная пища (водоросли) и мясная (фарш). Опыты продолжались две недели. Черви взвешивались два раза — до начала и в конце опыта.

Через две недели в сосудах с дрожжевой пищей первоначальный вес червей увеличился в 2—3—5 раз (табл. 2). В тех случаях, когда червям давалось больше пищи, наблюдалось большее увеличение в весе. В серии I на одну весовую единицу червя приходилось 6,3 мг корма, и за две недели вес червей в этой серии увеличился в два раза, тогда как в серии

1-а на весовую единицу животного пришлось 14,8 мг дрожжей, и здесь биомасса червей возросла почти в 4 раза. На мясной пище вес червей возрос примерно в 2,7 раза, а на растительной — в 1,2 раза.

Результаты этих опытов представляют практический интерес для рыбоводства. Нереис является прекрасным кормом для многих рыб Каспийского моря, и, очевидно, не составит затруднений разведение этого живого корма на дрожжевой пище. Вместе с тем становится ясным, что морские дрожжи, населяя моря и океаны, принимают там не только участие в превращениях мертвого органического вещества, но и выступают в качестве одного из звеньев в пищевых цепях моря. И вполне возможно, что в пищевых цепях моря дрожжи имеют значение для морских беспозвоночных и молоди рыб как источники витаминов. Эти стороны трофологии моря не получили еще своего освещения.

Таблица 2

Питание Nereis succinea морскими дрожжами

Повторности	Число червей в аквариуме	Общий вес червей в начале опыта в мг (14.VI)	Название корма	Общий вес корма, данного червям в течение опыта, в мг	Общий вес червей в конце опыта в мг (28.VI)	Увеличение веса в %
1	7	226	Sporobolomyces salmonicolor . . .	1422	490	217
1—а	7	73	„ „ . . .	1077	268	367
1—б	7	320	„ „ . . .	1476	612	191
1—в	7	53	„ „ . . .	956	193	364
2	9	23	Torulopsis candida	900	115	500
2—а	7	312	„ „	1280	537	172
2—б	7	113	„ „	1064	272	240
2—в	7	64	„ „	855	170	265
Контроль	7	70	Мясная пища		190	271
„	7	344	Растительная пища		422	123

Выводы

Широкие исследования в Черном море, Охотском море и прилегающем районе Тихого океана установили, что дрожжевые организмы встречаются на значительном расстоянии от суши или островов на самых различных глубинах от поверхности до дна [2]. Нередко в пробах воды с глубин в несколько тысяч метров обнаруживались при прямой микроскопии этих проб почкующиеся клетки дрожжей.

Среди морских гетеротрофных микроорганизмов, развивающихся на мясо-пептонных средах, дрожжи уступают в количественном отношении бактериальным организмам (частота находок их меньше). Повидимому, распределение дрожжей в морях связано с легко усвояемым органическим веществом и этим определяется микрозональность, очаговый характер в их распространении. Наряду с микрозональностью выявляется также макрозональность в распространении дрожжей. Частота обнаружения дрожжевых организмов была выше во внутриконтинентальном водоеме, каким является Черное море, в прибрежных районах морей, а в открытых частях водоемов — в поверхностных слоях водной толщи.

[2] Недавно дрожжевые организмы обнаружены (Крисс) на различных глубинах Северного Ледовитого океана в районе Северного полюса.

Все 525 культур дрожжей, выделенные с различных глубин Черного, Охотского морей и Тихого океана, относятся к аспорогенным формам, окрашенным и неокрашенным. Они являются видами и разновидностями Torulopsis, Rhodotorula, Sporobolomyces. Некоторые виды (Torulopsis candida, штаммы А и В) имели широкие ареалы, охватытающие Черное и Охотское моря; у других наблюдались более узкие в географическом отношении ареалы: Sporobolomyces salmonicolor был распространен главным образом в Черном море; Torulopsis pulcherrima оказался в основном обитателем Охотского моря и Тихого океана.

Дрожжи находят в море необходимые условия для своей жизнедеятельности не только в сфере фитопланктона и зоопланктона. В Черном море почкующиеся дрожжевые клетки обнаружены на 1000 и более метров глубже нижней границы растительной и животной жизни. Специальные опыты показали, что выделенные дрожжи могут размножаться в ультрафильтрованной и простерилизованной морской воде без добавления к ней питательных веществ, причем биомасса их увеличивается за 10—30 дней в 10—15 и даже 40 раз. Многие виды морских дрожжей способны использовать связанный кислород нитратов.

Становится очевидным, что подавляющее большинство дрожжевых организмов в морских водоемах являются не случайными формами, а видами, приспособленными к жизнедеятельности в условиях моря. Они, несомненно, участвуют в процессах превращения неорганических и органических веществ и играют определенную роль в пищевых отношениях обитателей морей и океанов

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 5.VII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Константинов А. Полупроизводственное разведение личинок хирономид. Рыбное хозяйство, № 1, 31, 1952.
2. Константинова Н. Разведение олигохет на кормовых дрожжах. Рыбное хозяйство, № 4, 60, 1952.
3. Крисс А. и Рукина Е. Микробиология Черного моря. Распространение микроорганизмов в водной толще Черного моря. Микробиология, 18, 141, 1949.
4. Крисс А., Рукина Е. и Бирюзова В. Микрозональность в распределении гетеротрофных микроорганизмов в море. Микробиология, 20, 256, 1951.
5. Крисс А., Рукина Е. и Новожилова М. Распространение гетеротрофных микроорганизмов в океанических глубинах. Изв. АН СССР, сер. биол., № 5, 85, 1952.
6. Крисс А., Рукина Е. и Тихоненко А. Распространение дрожжевых организмов в море. Жур. общей биол., 13, 232, 1952.
7. Разумов А. Взаимоотношения между бактериями и планктоном в связи с некоторыми вопросами гигиены воды. Сб. «Вопросы санит. бактер.», 1948.
8. Родина А. Роль бактерий и дрожжевых грибков в питании Cladocera (Daphnia magna). Тр. Зоол. ин-та, 7, 585, 1948.
9. Рукина Е. и Бирюзова В. Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток. Микробиология, 21, 60, 1952.
10. Рукина Е. и Новожилова М. Видовой состав дрожжевых организмов, выделенных с различных глубин Черного моря. Тр. Ин-та микробиологии, 2, 150, 1952.
11. Gräf. Forschungsreise S. M. S. «Planet», 1906—1907, Bd. IV, Biologie, 1909.
12. Lodder Y. Die anaskosporogenen Hefen. Erste Hälfte, Amsterdam, 1934.

ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО УДОБРЕНИЯ НА ПРОЦЕССЫ АЗОТФИКСАЦИИ И ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ АЗОТОГЕНА В РЫБОВОДНЫХ ПРУДАХ

А. Г. Родина

Зеленая растительная масса (подвяленная трава, ветви деревьев, скошенные макрофиты) применяется в настоящее время при интенсификации прудового хозяйства как одна из форм органического удобрения. Использование растительной массы дало в прудах различного типа хорошие, а в ряде случаев и блестящие результаты (Европейцева и Исакова-Кео [5, 6]; Исакова-Кео [8]).

Основы действия этого вида удобрения еще далеко не выяснены, особенно со стороны микробиологических процессов.

Все, что вносится в пруды, используется конечной продукцией — рыбой, не непосредственно, а через более или менее длинную пищевую цепь. При использовании растительных удобрений первым пищевым звеном являются бактерии. Величиной их биомассы, направлением микробных процессов, развивающихся в прудах с внесением удобрений, определяется полезное действие этих последних.

Так, например, развитие процессов образования сероводорода в прудах может свести на-нет усилия улучшить условия среды и питание выращиваемых рыб. Наоборот, усиление такого процесса, как азотфиксация,— процесса, увеличивающего в водоеме содержание азота, приводящего к синтезу бактериального белка, является одним из важных положительных моментов действия удобрений. Процесс азотофиксации именно вследствие его значения в улучшении азотного баланса прудов был положен сторонниками безазотистых удобрений в основу их применения. По теории безазотистых удобрений вносимые фосфорные соединения стимулируют размножение и жизнедеятельность азотфиксаторов (главным образом азотобактера), и высокий уровень азотфиксации делает ненужным внесение азотистых соединений (Арнольд [2]; Demoll [8]). К сожалению, эта теория была построена на совершенно недостаточном микробиологическом материале. Критику ее с этой стороны дает Винберг [3]. Безазотистые удобрения часто использовались и используются теперь и во многих случаях с положительными результатами, но данные, освещающие воздействие этих удобрений на возбудителей азотфиксации и размеры этого процесса, в литературе отсутствуют, что является уязвимым местом и в теории и в практике безазотистых удобрений.

Процесс азотфиксации нельзя недооценивать при всех видах удобрений. Использовать в водоемах через посредство азотфиксаторов молекулярный азот весьма заманчиво.

Но оценить реально размеры процесса азотфиксации в прудах можно будет лишь по накоплении большого фактического материала. Пока наши знания по этому вопросу для водоемов находятся в зачаточном состоянии. Гидробиология не располагает данными по распространению азотфиксирующих микробов в прудах различного типа и различных районов нашей страны. Не выяснены условия, необходимые для азотобактера в водной среде.

Многочисленные работы в области сельскохозяйственной микробиоло-

гии позволили не только выяснить закономерности распространения азотфиксаторов в почвах, но и разработать ценные практические мероприятия. Таково, в частности, применение бактериальных удобрительных препаратов. Микробиология же прудов не располагает ни опытом применения бактериальных удобрений, ни методами их изготовления.

Необходимость проведения на рыбоводных прудах большой работы по изучению основ действия удобрений стала в последнее время совершенно очевидной. И такая работа в настоящее время проводится несколькими учреждениями, в том числе и Гидробиологическим отделом Зоологического института Академии наук СССР. Микробиологические исследования являются частью комплексных работ Гидробиологического отдела. В настоящей статье излагаются данные исследования действия растительных удобрений, вносимых по зональному методу, предложенному Исаковой-Кео [8], на развитие и численность в прудах азотфиксаторов (азотобактера и Clostridium Pasteurianum).

Содержание обеих указанных групп бактерий определялось посевами в жидкие элективные среды (методом предельных разведений) и высевами на гелевые пластинки, пропитанные средами тех же составов. Для обнаружения азотобактера использовалась среда с иловой вытяжкой [12], для Cl. Pasteurianum — среда Виноградского.

Исследования проводились на прудах рыбцово-шемайного питомника Азчеррыбвода в Краснодарском крае.

Питомник работает с 1950 г. и является первым значительным предприятием по искусственному разведению ценных пород рыб в Азово-Кубанском промысловом районе. Наливные пруды рыбопитомника построены на легких суглинках, переходящих по мере углубления в песчано-галечник. Так как мощность покровных суглинков составляет всего два-три метра, то пруды сильно фильтруют (уровень воды падает в сутки на 12—14 см, в среднем же за месяц поступает количество воды, равное тройному объему пруда).

Пруды расположены на открытом, сильно прогреваемом солнцем месте. Они снабжаются водой р. Псекупс, в верхнем своем течении типичной горной реки, в районе рыбопитомника имеющей предгорной характер течения. Основным источником питания р. Псекупс являются поверхностные воды (дождевые и талые снеговые воды в балансе Псекупса составляют 90%), и только незначительная часть питания этой реки (10%) приходится на долю грунтовых вод. Поэтому вода Псекупса, накачиваемая в пруды рыбопитомника, бедна органическими веществами (окисляемость 2—3 мг O_2 на 1 л), средне минерализована (минерализация в сумме ионов 340 мг/л[1]), относится она к кальциевой группе гидрокарбонатного класса (по классификации Алекина [1]).

Вода Псекупса в межень бедна бактериями. Однако для развития азотфиксирующих микробов в воде Псекупса имеются благоприятные условия.

Азотобактер находится далеко не во всех водоемах. Можно привести примеры как полного отсутствия азотобактера, так и наличия его в прудах. Так, например, ни разу не был получен рост азотобактера при многочисленных посевах из прудов рыбхоза «Пуйга» (Калининская область) (анализы проводила Головачева). Отсутствовал, по данным Гусевой, азотобактер в прудах рыбхоза «Соколово» Новгородской области (Иоффе [7]).

В прудах же Краснодарского края азотобактер, повидимому, широко распространен. Так, в старых прудах Синюхинского рыбхоза азотобактер был обнаружен нами в водной толще всех прудов в количестве от 1 до 100 клеток в 1 мл. Еще бóльшие количества азотобактера (от 100 до 1000 в 1 мл) были найдены в прудах Ангелинского рыбхоза того же края.

Условия, благоприятствующие развитию азотобактера в водной среде, еще точно не определены. Можно отметить, что в р. Псекупс вода бедна органическими веществами, но содержит много взвешенных лессовых частиц, имеет щелочное pH = 8,0—8,2 и относительно богата кальциевыми солями.

[1] Химические данные принадлежат Н. Г. Озерецковской.

Нахождение азотобактера в р. Псекупс связано как с водой, так и с лессовыми частицами, которые эта быстрая река несет даже в межень в значительных количествах, а во время паводков в огромных. Явление связанности азотобактера с иловыми частицами, богатыми гумусом и фосфором, отмечает Сушкина [17] для всех исследованных ею рек (Волга, Волхов, Аму-Дарья, Зеравшан, Ягноб, Собак, Ингур, Долра, Мульхра).

В воде р. Псекупс азотобактер обнаруживался в течение всего периода наблюдений (с мая по сентябрь). Количества его были неодинаковы в различные периоды сезона, максимальное содержание приходилось на июнь — август, когда число его клеток доходило до 100 в 1 мл (в начале мая и в сентябре титр азотобактера был большей частью 1 мл). Анаэробный фиксатор азота — Cl. Pasteurianum — находился в воде р. Псекупс в таком же количестве, и в его сезонном распределении могла быть отмечена та же самая закономерность.

В прудах азотобактер обнаруживался всегда в тех же количествах, как и в реке, хотя здесь можно было бы ожидать быстрого его оседания вместе с илистыми частицами вследствие изменения скоростей течения. В воде прудов содержание азотобактера колебалось от 10 (в первую половину лета) до 100 клеток в 1 мл (во вторую половину лета). Таким образом, в неудобряемых прудах, как и в питающем их Псекупсе, содержание азотобактера увеличивается от весны к лету. Следовательно, в жаркое время года усиливается процесс азотфиксации. Та же самая закономерность — нарастание численности азотобактера и усиление процесса азотфиксации в летнее время — была отмечена нами и в прудах Таджикистана [15].

Первые наблюдения по влиянию внесения растительных удобрений (подвяленных луговых трав) на развитие азотобактера были проведены на экспериментальных прудах рыбопитомника — маленьких водоемах размерами 0,025 и 0,040 га, относительно глубоких (до 2,5—3 м), с крутыми берегами. Три из этих прудиков (№ 5э, 7э и 8э) были использованы как опытные, один (№ 6э) оставался все время без удобрения как контрольный.

До внесения зеленого удобрения содержание азотобактера во всех прудах было одинаковым — 10 клеток в 1 мл воды и 100 в 1 г грунта.

Первый раз зеленое удобрение было внесено в экспериментальные пруды 8 мая, и уже 11 мая было отмечено различие в содержании азотобактера в водной толще удобряемых прудов и неудобрявшегося пруда (рис. 1). К этому времени гнилостные бактерии (при температуре воды в прудах 19—22,5°) уже успели использовать большую часть органических соединений азота, отданных в воду зелеными удобрениями, и азотобактер получил возможность развиваться на продуктах разложения растительной массы. На способность азотобактера использовать продукты разложения растительных масс и вовлекать на основе этого молекулярный азот в химическую реакцию указывает в своих классических работах С. Н. Виноградский [4]. Признавая «склонность» азотобактера к указанным веществам, С. Н. Виноградский [4, стр. 679] отмечает, что при таком источнике углеродного питания и физиологические и морфологические свойства этого микроорганизма остаются нормальными.

Количество клеток азотобактера, развивавшихся в зоне внесения удобрений, увеличилось за указанный короткий срок в 10 раз. Последующее внесение растительной массы, произведенное 20 мая, повысило численность азотобактера в зоне удобрения до 1000 клеток в 1 мл.

Эти первые наблюдения показали, что в прудах имеются условия для развития азотобактера и что внесение зеленой растительной массы, давая энергетический материал азотобактеру, ускоряет во много раз его размножение, а следовательно, в водоеме имеет место и усиление процесса азотфиксации. Это позволило провести намеченный опыт применения удобрительного препарата, содержащего азотобактер по типу азотогена, приго-

товленного на местном водном штамме. Для этого был выделен из воды прудов штамм, являющийся разновидностью Az. chroococcum. В молодом состоянии клетки этого штамма очень подвижны, имеют длину 2,6—3,0 μ и ширину 2,1—2,3 μ. С возрастом клетки утрачивают подвижность, становятся шарообразными (диаметр 2,6—3,0 μ). Штамм дает густо коричневый налет и фиксирует на 1 г маннита около 12 мг азота.

Препарат приготовлялся двумя способами: 1) засевами в жидкую среду в большие колбы Виноградского (емкостью 2,5 л) и 2) засевом агара, распределенного после стерилизации тонким слоем по внутренней поверхности полулитровых бутылок, и смывов водой выросших культур. В том и в другом случае в пруд вносился препарат, содержащий в 1 мл

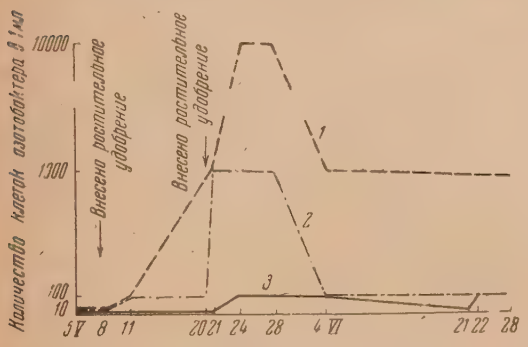

Рис. 1. Развитие азотобактера в воде экспериментальных прудов

(*1* — экспериментальный пруд № 5 — зона удобрения растительное удобрение + азотоген); *2* — экспериментальный пруд № 7 — зона удобрения (растительное удобрение); *3* — экспериментальный пруд № 6 (контрольный)

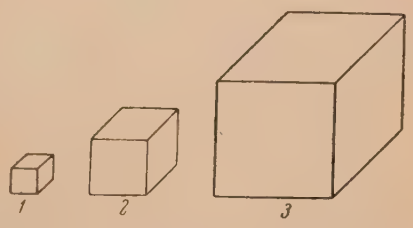

Рис. 2. Численность азотобактера в грунтах экспериментальных прудов

1 — экспериментальный пруд № 6 (контрольный); *2* — экспериментальный пруд № 7 — зона удобрения (растительное удобрение); *3* — экспериментальный пруд № 5 — зона удобрения (растительное удобрение+азотоген)

несколько миллионов клеток азотобактера. На общий объем воды в пруду количество внесенных клеток было невелико. Азотоген был внесен в один из удобрявшихся экспериментальных прудов (№ 5э) в первый раз 11 мая на поверхность загруженной за 3 дня до этого растительной массы. Через 8 суток при загрузке свежего удобрения новая порция препарата была вылита на поверхность погруженной в воду растительности.

Внесение азотогена сказалось на содержании азотобактера в пруду. Рис. 1 показывает сравнение численности азотобактера в пруду № 7э[2], в который была внесена растительная масса без азотогена, в пруду № 5э, куда на растительное удобрение вносился этот препарат, и в пруду № 6э, который оставался в качестве контрольного без всякого удобрения.

В то время как вторичное внесение зеленого удобрения повысило развитие азотобактера в прудах № 7э и 8э до 1000 клеток в 1 мл, в пруду № 5э содержание азотобактера в зоне удобрения достигало 10 тыс. клеток в 1 мл, величины, ни разу не наблюдавшейся в исследуемых прудах без внесения азотогена.

Различие в содержании азотобактера обнаружили и грунты указанных прудов. В грунтах всех прудов шел процесс десульфатизации, вызванный затоплением почвы водой, а в удобряемых прудах стимулируемый еще внесением удобрений. Следовательно, кислородные условия не благоприятствовали развитию азотобактера. Несмотря на это, численность азотобактера в грунтах зоны удобрений в пруду № 5э доходила до 100 тыс. клеток на 1 г (сырого веса), в прудах № 7э и 8э до 10 тыс. на 1 г, в грунтах контрольного пруда не превышала 1 тыс. (рис. 2).

[2] Данные по пруду № 8э на рисунке не представлены ввиду полного совпадения их с данными по пруду № 7э.

Таким образом, и в донных отложениях может быть констатировано четко выраженное различие в содержании азотобактера в пруду, получившем растительное удобрение и азотоген, в пруду, удобрявшемся только растительной массой, и в контрольном пруду.

Содержание азотобактера в водной толще и в грунтах водоема позволяет сделать заключение о размерах процесса фиксации азота. Несмотря на то, что азотобактер фиксирует азот только в среде, лишенной связанного азота, такое активное его развитие и присутствие в воде и в грунтах штаммов с высокой азотфиксирующей способностью говорят о том, что в пруду № 5э этот процесс шел активно.

Применение азотогена дает увеличение численности азотобактера во много раз в тех водоемах, где имеются условия для его развития и куда вносится удобрение, которое может быть использовано этим микробом как энергетический материал.

В настоящее время оказалось невозможным отделить влияние мощного развития азотобактера в пруду № 5э на продуктивность от всех других факторов. Действие на среду растительных удобрений многообразно. Общее число микробов в зоне удобрения доходит до 32 млн. в 1 мл (Родина [14]). Усиливаются процессы аммонификации и нитрификации, увеличивается анаэробная азотфиксация. Тем не менее увеличение численности этого микроба в десятки раз в результате применения азотогена весьма показательно.

Та масса бактерий, которая развивалась в зоне зеленого удобрения и в самой внесенной растительной массе, использовалась в питании зоопланктонными организмами, дававшими на этом корме высокие темпы размножения. Кладоцера, питавшиеся бактериями, образовывали в зоне удобрения хорошо заметные невооруженным глазом беловатые облачка значительных размеров.

Экспериментальные пруды были спущены в конце июня, и наблюдения за динамикой численности азотобактера при растительном удобрении были продолжены на производственных прудах № 5 и 6 площадью около 1 га и менее глубоких, чем экспериментальные пруды. После загрузки растительной массы в пруд № 5 на нее вносился азотоген.

В производственных прудах было отмечено то же самое явление: растительные удобрения стимулировали развитие азотобактера. И в этих прудах, как и в экспериментальных, и даже в более высокой степени, благодаря более высокой температуре воды в это время (июль и август) и внесению значительно больших количеств растительной массы, имело место бурное развитие гнилостных бактерий. Размножение азотобактера начинало идти усиленным темпом до того, как гнилостные микробы использовали полностью все количество внесенного органического азота. Особенно ярко это наблюдалось в самой растительной массе.

Различие в содержании азотобактера в обоих прудах было четко выражено. Численность азотобактера в воде зоны удобрения пруда № 5 доходила в периоды максимального размножения этого микроба (на вторые — третьи сутки после внесения удобрения) до 100 тыс. в 1 мл. Она держалась на таком уровне в течение 6—7 суток, после чего начиналось уменьшение количества клеток азотобактера. В центре пруда в это время содержание азотобактера не превышало 100 клеток в 1 мл. В растительной массе содержание азотобактера достигало до 1 млн. в 1 г сырого веса. В пруду № 6 численность азотобактера не превысила 10 тыс. на 1 мл, в растительной же массе достигла тех же самых величин, как в пруду № 5. И даже в сентябре, когда количество азотобактера в водоемах снижается, внесение азотогена повысило содержание его клеток в воде зоны удобрения до 100 тыс. на 1 мл (табл. 1, пруд № 5, сентябрьская серия).

Полученные данные по численности азотобактера в прудах, несомненно, ниже действительных. Азотобактер и в воде, и в грунтах, и в расти-

тельной массе образует скопления — микроколонии различных размеров, трудно разбиваемые на отдельные клетки при самом длительном встряхивании посевного материала перед посевом. На плотной среде из такого скопления развивается одна колония; в жидкой среде отмечается рост для того разведения, какое было использовано для посева. И в том и в другом случае принимается, что в посевном материале содержалась одна клетка. Можно не сомневаться, что при улучшении методов исследования будут получены цифры азотобактера, по численности более отвечающие истинному количеству его в водоемах. Сейчас же мы вынуждены исходить при расчетах из явно заниженных чисел.

Интенсивное размножение азотобактера в воде зоны удобрения в внесенной растительной массе и в грунте показывает, что происходит вовлечение в биотический круговорот значительных количеств молекулярного азота. По данным Красильникова [9], азотобактер дает реальный эффект накопления азота в почве при содержании его в количестве 50 тыс. клеток в 1 г. В пруду № 5 в зоне удобрения содержание азотобактера было выше этой цифры как в воде, так и в растительной массе удобрения и в грунте. Число клеток азотобактера в 1 л воды при наблюдавшемся содержании его (100 тыс. в 1 мл) составляет 100 млн. На таком уровне численность азотобактера держалась до 7 суток (табл. 1, пруд № 5, июльская серия). Красильников считает, что 100 млн. клеток азотобактера за 6 суток фиксируют 0,3 мг азота. При этих расчетах прибыль азота в зоне удобрения должна быть выше, чем 0,3 мг/л, так как процесс шел не только в воде, но и в растительной массе. В грунте зоны удобрения содержание клеток этого азотфиксатора доходило до 100 тыс. клеток на 1 г. Для установления размеров азотфиксации в грунте надо было бы определить толщину слоя, в котором шла азотфиксация, чего по техническим причинам сделано не было. Но даже ориентировочные подсчеты, основанные на данных Красильникова, показывают, что растительные удобрения и азотоген дают значительное повышение количества азота в водоеме.

Поддерживать содержание азотобактера на высоком уровне возможно лишь повторяющимися внесениями зеленых удобрений. Клетки азотобактера интенсивно выедаются простейшими, зоопланктоном и эпифитными животными, развивающимися на растительности, что приводит к понижению числа его клеток. Приуроченность простейших к скоплениям азотобактера, которым они питаются, видна из неизменно наблюдающегося развития простейших в посевах вместе с этим микроорганизмом. О поглощении азотобактера зоопланктонными организмами в больших масштабах позволяют заключить проведенные вскрытия кишечников рачков. И если мы не располагаем прямыми доказательствами поглощения клеток этого микроба различными эпифитными животными, то все работы, проведенные нами по питанию водных животных бактериями (Салимовская-Родина [16]; Родина [10, 11, 13], дают основание утверждать, что такое выедание в водоеме происходит. Интенсивное питание водных животных клетками азотобактера и уменьшение темпов его размножения после израсходования необходимого энергетического материала приводят к уменьшению его численности. Через 14 суток по внесении растительного удобрения содержание азотобактера в воде падает до 1000 клеток в 1 мл и до 100 в 1 г зеленого удобрения.

Параллельно с азотфиксацией, проводимой азотобактером, этот же процесс осуществляется и другими микроорганизмами, в том числе и Cl. Pasteurianum.

Cl. Pasteurianum постоянно развивается в водоемах в соседстве с азотобактером. В посевах часто наблюдается развитие анаэроба Cl. Pasteurianum вместе с аэробом азотобактером.

Анаэробные фиксаторы азота повторяют при удобрении прудов растительной массой кривую развития азотобактера. Так, содержание Cl.

Таблица

Динамика количества азотфиксаторов при удобрении прудов растительной массой

Количество клеток в воде на 1 мл, в растительной массе на 1 г в тысячах

Дата	Пруд № 5 производственный						Дата	Пруд № 6 производственный					
	вода в зоне удобрений		растительная масса		вода в центре пруда			вода в зоне удобрений		растительная масса		вода в центре пруда	
	Azotobacter	Clostr. Pasteurianum	Azotobacter	Clostr. Pasteurianum	Azo obacter	Clostr. Pasteurianum		Azotobacter	Clostr. Pasteurianum	Azotobacter	Clostr. Pasteurianum	Azotobacter	Clostr. Pasteurianum
25 VII *	0,01	0,1	—	—	0,1	0,1	8 VIII *	0,01	0,1	—	—	0,1	0,1
	Внесено 231 кг подвяленной травы + азотоген							Внесено 306 кг подвяленной травы					
26 VII	10	10	10	10	0,1	1	9 VIII	0,1	1	10	1 000	—	—
28 VII	100	10	100	100	0,01	0,1	10 VIII	10	10	100	10 000	0,1	0,1
30 VII	100	10	100	100	0,1	0,1	11 VIII	10	10	1 000	10 000	0,1	0,1
1 VIII	100	10	1 000	100	0,01	0,1	14 VIII	10	10	1 000	10 000	0,01	0,01
3 VIII	10	10	100	100	0,1	0,1	16 VIII	1	100	100	10 000	0,01	0,1
7 VIII	10	10	100	1 000	0,01	0,1	18 VIII	1	10	100	100	0,01	0,1
10 VIII	1	1	100	100	0,01	0,1	21 VIII	1	1	100	1 000	0,01	0,1
	Внесено (на старое удобрение, заложенное 16/VIII) 400 кг подвяленной травы + азотоген							Внесено (на старое удобрение) 300 кг подвяленной травы					
1 IX	0,1	0,1			0,01	0,1	22 VIII**	10	10	1	100	0,1	0,1
2 IX	1	1			—	—	22 VIII***	10	100	10	1 000	—	—
7 IX	10	10			—	—	23 VIII	10	1 000	10	1 000	—	—
4 IX	100	10			0,01	0,1	24 VIII	10	1 000	10	1 000	0,1	0,1
6 IX	100	10			—	—	25 VIII	10	100	10	1 000	—	—
8 IX	1	10			0,001	0,01	27 VIII	10	100	1	100	—	—
							29 VIII	1	10	1	10	0,01	0,1
							1 IX	0,1	1	0,1	1	—	—
							4 IX	0,1	1	0,1	0,1	0,01	0,01

* До внесения удобрения; ** утро; *** вечер.

Pasteurianum в экспериментальных прудах до внесения зеленого удобрения выражалось цифрами от 100 до 1000 клеток в 1 мл, после внесения зеленого удобрения его численность возросла в 10, а затем в 100 раз.

Усиление развития Cl. Pasteurianum могло быть отмечено и в производственных прудах. Содержание этого микроорганизма в воде зоны удобрения дошло до 100 тыс. в 1 мл, а в разлагающейся зеленой массе до 1 млн. на 1 г (таблица). В центре пруда (вдали от зоны удобрения) такого увеличения отмечено не было.

По мере израсходования питательных веществ количество клеток Cl. Pasteurianum падает до 100 в 1 мл воды и до 100 тыс. в 1 г травы.

Таким образом, большое количество наблюдений, проведенных как на экспериментальных, так и на производственных прудах рыбопитомника, показало, что в тех водоемах, где имеются условия для развития азотобактера, внесение растительных удобрений по зональному методу, обеспечивая азотобактер источником углерода, благоприятствует его размножению, а следовательно, и проявлению полезных его свойств.

Выводы

Внесение растительной зеленой массы в качестве удобрения в рыбоводные пруды значительно увеличивает численность азотфиксаторов (азотобактера и Cl. Pasteurianum). Это нарастание численности азотофиксаторов связано с использованием ими в качестве энергетического материала продуктов разложения растительной массы.

Внесение азотогена по растительному удобрению повышает численность азотобактера во много раз. Высокая в этих условиях степень размножения азотобактера обеспечивает вовлечение в биотический круговорот значительных количеств молекулярного азота.

Поддержать на высоком уровне численность азотобактера в прудах, где клетки этого микроба интенсивно выделяются простейшими и зоопланктоном, возможно лишь при повторяющихся загрузках зеленой растительной массы и внесений азотогена.

Зоологический институт
Академии наук СССР
Ленинград

Получено 24.II.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алекин О. А. Общая гидрохимия. Гидрометеоиздат, 1948.
2. Арнольд И. Н. Удобрение прудов. Пищепромиздат, 1941.
3. Винберг Г. Г. Биологические основы минерального удобрения рыбоводных прудов. Усп. совр. биол., XXXIV, вып. 1 (4), 1952.
4. Виноградский С. Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы. Изд. АН СССР, 1952.
5. Европейцева Н. В. и Исакова-Кео М. М. Выращивание молоди сигов с одновременным разведением живого корма в выростных прудах. Вестн. Ленингр. ун-та, № 6, 1947.
6. Европейцева Н. В. и Исакова-Кео М. М. Опыт выращивания молоди сигов, форели и лосося в прудах Кексгольмского рыбоводного завода. Тр. лабор. основ рыбоводства, II, 1949.
7. Иоффе Ц. И. Влияние органических удобрений на развитие кормовой базы. Вестн. Ленингр. ун-та, № 8, 1950.
8. Исакова-Кео М. М. Зональный метод выращивания живых кормов и его значение для прудовых хозяйств и рыбоводных заводов. Вестн. Ленингр. ун-та, № 8, 1950.
9. Красильников Н. А. Микробиологические основы бактериальных удобрений. Изд. АН СССР, 1945.
10. Родина А. Г. Роль бактерий в питании личинок тендепедид. ДАН СССР, 67, № 6, 1949.
11. Родина А. Г. Бактерии как пища пресноводных моллюсков. Микробиология, XVII, № 3, 1949.

12. Родина А. Г. Микробиологические исследования водоемов. Изд. АН СССР, 1950.
13. Родина А. Г. Экспериментальные исследования питания дафний. Тр. Всес. гидробиол. об-ва, т. II, 1950.
14. Родина А. Г. Динамика бактериальной биомассы при использовании зеленого удобрения в рыбоводных прудах. ДАН СССР, 84, № 6, 1952.
15. Родина А. Г. Динамика биомассы микробов и процессов круговорота в воде прудов. Изв. Отд. ест. наук АН Тадж. ССР, вып. III, 1953.
16. Салимовская-Родина А. Г. Бактерии и дрожжевые грибки как пища для Cladocera. ДАН СССР, 29, № 3, 1940.
17. Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распределение азотобактера в почвах СССР. Изд. АН СССР, 1949.
18. Demoll R. Teichdüngung. Handb. d. Binnenfischerei, 4, 1925.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА БАКТЕРИЙ В МОРСКОЙ ВОДЕ

Н. Н. Алфимов

В санитарной практике при исследовании природных пресных вод широкое применение нашел стандартный метод (см. ГОСТ 5216—50) определения количества бактерий путем посева исследуемой воды на мясо-пептонный агар (МПА).

Метод посева на плотную питательную среду был долгое время единственным методом исследования бактериального населения водоемов.

Работы С. Н. Виноградского показали, что действительное число микроорганизмов в почве значительно больше того количества, которое учитывается на мясо-пептонных агаровых средах. В связи с этим встал вопрос об изыскании более точных методов количественного учета микроорганизмов и в естественных водоемах. Кузнецов [5, стр. 77] указывает, что постановке этого вопроса способствовало также стремление исследователей увязать динамику физико-химических ингредиентов в водоеме с деятельностью микроорганизмов. По данным этого автора, максимальные цифры бактериального населения в водоеме при учете по методу разливки оказывались порядка 200—300 в 1 мл, и естественно, что деятельностью такого количества бактерий невозможно было объяснить динамику кислорода, азота или фосфора в водоеме.

Впервые микроскопический метод учета общего количества бактерий был предложен Холодным [7] и почти одновременно с ним Кузнецовым и Карзинкиным [4] и Разумовым [6]. Наиболее полно с методической стороны прямой учет микроорганизмов был разработан Разумовым.

По этому методу определенный объем воды профильтровывается через мембранный фильтр. При этом все находящиеся в воде бактерии оседают на поверхность фильтра или забиваются в его поры. Затем фильтр подсушивается, окрашивается 1%-ным раствором эритрозина на 5%-ной карболовой кислоте, вновь подсушивается, помещается на предметное стекло и заключается в канадский бальзам. Подсчет бактерий ведется с иммерсионной системой при помощи окулярного сетчатого микрометра.

Сравнительное определение количества бактерий методом разливок и методом прямого счета показало, что методом прямого счета обнаруживается в сотни и тысячи раз больше бактерий, чем методом разливок.

Существует мнение (Цобелл [9]), что прямой метод дает преувеличенные цифры, ибо при этом методе учитываются и отмершие клетки. Однако опасения, что методом прямого счета могут учитываться большие количества отмерших микроорганизмов, оказались сильно преувеличенными. У Кузнецова методом прямого счета учитывается около 90% жизнеспособных бактерий и только 10% отмерших. Отмершие бактериальные клетки, подчеркивает Кузнецов [5], не могут долго оставаться в оформленном состоянии, так как они быстро подвергаются лизису под действием освободившихся ферментов самой отмершей клетки.

Определяя количество бактерий в речной воде параллельно методом прямого счета и методом разливки, Разумов [6] установил, что наиболее сходные результаты оба метода давали в загрязненных участках реки и, наоборот, наибольшее расхождение обнаруживалось в чистых ее частях.

На основании своих наблюдений автор приходит к выводу, что для санитарных целей наиболее пригодным является метод посева на плотные питательные среды.

Этот вывод Разумова относится к пресным водам, и, естественно, будет неверным использовать его без экспериментальной проверки при исследовании загрязненных морских вод, так как последние обладают рядом физико-химических и биологических особенностей, отличающих их от пресных вод.

Для того чтобы установить, какой из двух методов определения количества бактерий — метод прямого счета или метод посева на МПА — наиболее пригоден при санитарно-бактериологическом исследовании загрязненных морских вод, нами определялись количества бактерий в загрязненных прибрежных водах Черного моря обоими методами параллельно. Прибрежные морские воды исследовались при различных условиях: во время дождя, в сухую погоду и при скоплении в бухте морских судов.

В настоящем сообщении приводятся результаты наблюдений, полученных в 1950 и 1953 гг.

Одновременно с определением количества бактерий в воде определялись титр кишечной палочки и окисляемость воды. Всего было сделано: 73 определения количества бактерий методом прямой микроскопии по Разумову; 115 определений количества бактерий методом посева на МПА; 86 определений титра кишечной палочки при помощи мембранных ультрафильтров и 76 определений окисляемости в нейтральной среде по Скопинцеву. Полученные нами данные приводятся в табл. 1, 2, 3 и 4.

Таблица 1

Количество бактерий в 1 мл воды бухты во время дождя и в сухую погоду

Место взятия проб	№ станции	Количество бактерий в 1 мл			
		в дождливую погоду		в сухую погоду	
		посев на МПА	метод прямого счета	посев на МПА	метод прямого счета
Вход в бухту	1	10	25 340	2	10 850
Середина внутреннего рейда	3	20	38 016	6	19 712
	20	12	30 296	5	13 648
Фарватер бухты. На обоих берегах расположены выпуски дождевых вод	4	300	39 424	10	—
	8	120	—	9	—
	11	80	46 464	12	26 912
У берега в районе выпусков дождевых вод	5	800	46 464	22	—
	6	2000	74 624	16	36 320
	7	450	—	20	—
	10	300	46 464	33	—
	12	280	71 808	20	—
	13	3500	83 296	20	—
	9	300	—	12	39 424
	15	160	—	20	—

Во время дождя санитарное состояние прибрежных морских вод ухудшается, так как дождевые воды смывают загрязнения с суши и вносят их в бухту.

Большое загрязнение прибрежных морских вод, которое имеет место при выпадении атмосферных осадков, отмечается обоими методами определения количества бактерий (табл. 1). В сухую же погоду метод посева на МПА дал ничтожное количество бактерий, ориентируясь на которое,

можно предполагать, что в сухую погоду воды бухты не подвергаются загрязнению. Однако такое предположение не согласуется ни с данными санитарного осмотра, ни с результатами определения титра кишечной палочки (табл. 2).

Таблица 2

Титр кишечной палочки и количество бактерий в воде бухты в сухую погоду

Место взятия проб	Коли-титр	Количество бактерий в 1 мл воды	
		посев на МПА	метод прямого счета
Вход в бухту	50	2	10 850
Середина внутреннего рейда	7,5	5	13 648
	5,0	6	19 712
Фарватер бухты	5,0	10	—
	4,0	12	26 912
	3,0	9	—
	2,5	10	—
У берега	3,3	16	36 320
	1,1	12	39 424
	0,5	22	—
	0,5	33	—

Как видно из приведенных в табл. 2 данных, при величинах коли-титра 1—0,5 мл, т. е. когда вода достаточно сильно загрязнена, количество бактерий в 1 мл, установленное методом разливки, не превышало 33, тогда как по методу прямого счета было определено 39 424 бактериальных клеток. Следует отметить также, что, в отличие от данных, полученных по методу посева на МПА, количество бактерий, найденное методом прямого счета, изменялось закономерно и хорошо согласовывалось с величинами титра кишечной палочки.

Аналогичные результаты были получены при исследовании бухты во время скопления в ней морских судов (табл. 3).

Таблица 3

Количество бактерий и титр кишечной палочки воды бухты во время скопления в ней морских судов

Место взятия проб	Коли-титр	Количество бактерий в 1 мл	
		посев на МПА	метод прямого счета
Вход в бухту	1,0	10	11 264
В районе стоянки морских судов	0,5	19	35 200
	0,05	20	43 376
	0,05	250	50 688
	0,01	1400	62 656

Из табл. 3 видно, что результаты определения количества бактерий методом посева на МПА характеризуются пестротой: при одном и том же титре кишечной палочки (0,05) количество бактерий в 1 мл равнялось 20 и 250, при величинах коли-титра, отличающихся в 10 раз (0,5 и 0,05), количество бактерий равнялось 19 и 20.

Исследования морской воды в изучаемом районе побережья, проведенные в 1953 г., показали, что морская вода в 1953 г., по сравнению с 1950 г., имела более высокие величины окисляемости и во много раз более низкие величины титра кишечной палочки (табл. 4).

Таблица 4

Результаты исследования прибрежных морских вод в 1950—1953 гг.

Место взятия проб	Окисляемость в мг/O_2/л		Коли-титр		Количество бактерий в 1 мл по годам			
	по годам				метод прямого счета		посев на МПА	
	1950	1953	1950	1953	1950	1953	1950	1953
Вход в бухту и середина рейда	0,97	1,60	20,5	0,22	23 392	61 622	9	51
Фарватер бухты	1,14	1,72	2,22	0,028	36 688	75 360	68	57
У берега	1,23	1,69	0,96	0,081	59 876	89 655	440	97
Количество определений . .	41	35	38	32	19	28	38	32

Из приведенных в табл. 4 данных можно видеть, что количество бактерий, определенное методом прямого счета, хорошо согласуется с данными химического исследования и величинами коли-титра, тогда как по методу посева на МПА были получены совершенно иные результаты. Если бы в 1950 г. у берега среднее количество бактерий в 1 мл по методу посева на МПА было равно 440, то в 1953 г., когда загрязнение было бóльшим, этим методом определялось в среднем 97 бактерий.

Тот факт, что при определении количества бактерий методом посева на МПА получались противоречивые результаты, плохо согласующиеся с данными химического и санитарно-бактериологического исследования, может быть объяснен, по нашему мнению, характером распределения микроорганизмов в морской воде.

Яковенко [8] указывает, что микроорганизмы в морской воде распределены неравномерно. Им приводятся данные Цобелл и Фельтгем, которые, засевая по 1 мл воды, могли наблюдать, что количество бактерий в отдельных пробах, взятых на одном и том же месте с промежутками времени в несколько секунд, может изменяться в пределах 12,1—155,8%.

Крисс, Рукина и Бирюзова [3] отмечают, что «даже в поверхностных слоях воды, где действуют факторы энергичного перемешивания, казалось бы, создающие условия для равномерного распределения микробных клеток, в этих слоях наблюдается ясно выраженная очаговость в распределении микроорганизмов, колебания от нуля до несколько сотен колоний гетеротрофов на 1 мл воды». Основываясь на данных Буткевича [1] и Исаченко [2], они приходят к заключению, что явление микрозональности в распределении микроорганизмов не есть особенность только Черного моря и является отражением неравномерности в распределении органического вещества в морской воде.

Бактерии в морской воде собираются в комочки. При встряхивании исследуемой пробы воды эти комочки выделяют огромные количества бактерий, вследствие чего посевы такой воды могут давать весьма разнообразные результаты (Яковенко [8]).

Естественно, что при неравномерном распределении бактерий в морской воде, исследуя 1 мл воды (как это делается при посеве воды на МПА), мы не гарантированы от получения случайных величин. При опре-

делении же количества бактерий по методу прямого счета (по Разумову), когда исследуется 5—10—15 мл воды, возможность получения случайных величин устраняется почти полностью.

Выводы

1. Метод прямого счета в большей степени, чем метод посева на плотные питательные среды, отражает истинное содержание бактерий в морской воде.
2. Результаты определения количества бактерий по прямому методу хорошо согласуются с данными гидрохимического и санитарно-бактериологического анализа.
3. При использовании метода прямого счета (по Разумову) почти полностью устраняется возможность получения случайных величин количества бактерий.
4. Преимущества метода прямого счета бактерий (по Разумову) позволяют рекомендовать этот метод для санитарно-бактериологических исследований морской воды.

В. М. М. А.
Ленинград

Получено 12.1.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. С. Методика бактериологического исследования и некоторые данные по распределению бактерий в воде и грунтах Баренцова моря. Тр. Гос. океанографического института, II, вып. 2, 1933.
2. Исаченко Б. Л. Микробиологическая характеристика грунтов и вод Карского моря. Тр. Всесоюзного арктического института, 82, 7, 1937.
3. Крисс А. Е., Рукина Е. А., Бирюзова В. И. Микрозональность в распределении гетеротрофных микроорганизмов в море. Микробиология, XX, вып. 3, 1951.
4. Кузнецов С. И., Карзинкин Г. С. Метод количественного учета бактерий в воде. Русский гидробиологический журнал, IX, № 1—3, 1930.
5. Кузнецов С. И. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. М., 1952, Изд. АН СССР.
6. Разумов А. С. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение его с методом Коха. Микробиология, I, вып. 2, 1931.
7. Холодный Н. Г. До методики кількісних досліджень бактерійного планктону. Збірн. праць Дніпровскої біологічн. станції, № 3, Київ, 1928.
8. Яковенко В. А. Методы санитарной оценки морских вод. Л., 1950.
9. ZoBell C. Marine Microbiology. A monograph on hydrobacteriology. Chronica Botan Comp. 1946.

ДЫРЧАТАЯ ПЯТНИСТОСТЬ АБРИКОСОВ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ

Ю. И. Шнейдер

Различные грибные и бактериальные болезни значительно снижают урожайность абрикосовых деревьев, а также питательные, вкусовые и товарные свойства их плодов. К заболеваниям, имеющим значение в Советском Союзе и приносящим ущерб этим культурам, относится дырчатая пятнистость. Этиология дырчатой пятнистости абрикосов и других косточковых до последнего времени оставалась не вполне выясненной, хотя по этому вопросу опубликовано много работ как русских, так и иностранных авторов.

С 1843 по 1902 г. было описано восемь видов грибов, которые способны самостоятельно вызывать дырчатую пятнистость косточковых, в том числе и абрикоса. В 1902 г. Адергольдом (Aderhold [15]) было установлено, что описанные многими авторами под различными названиями возбудители являются синонимами гриба Clasterosporium carpophilum Ad. Им же впервые была доказана идентичность возбудителей, вызывающих сходные заболевания на различных видах косточковых деревьев.

Смит (Smith, [18]) впервые описал бактериоз, обнаруженный им на Prunus japonica, и он же вскоре выделил и изучил бактерию, названную им Bacterium pruni E. Smith. Вскоре этот исследователь описал подобное заболевание на абрикосе и ряде других видов рода Prunus.

По литературным данным, возникновение этого заболевания происходит под действием различных возбудителей.

Большинство исследователей, изучавших этот вопрос, считают, что в условиях нашей страны болезнь вызывается в основном различными грибами, чаще всего Clasterosporium carpophilum Ad. (Барбарин [1]; Запрометов [9]; Веденеева [5]; Леонтьева [12]; Головин [6] и др.).

Небольшая часть авторов считает, что наряду с дырчатой пятнистостью, вызываемой грибом Clasterosporium carpophilum, сходное по симптомам заболевание могут вызывать бактерии. Так, Ячевский [14] считал, что наряду с клястероспориозом в Советском Союзе имеется заболевание, вызываемое Xanthomonas pruni (в Крыму и Бессарабии). Подробно это заболевание им не изучалось. В 1940 г. Сербинов [13] пришел к выводу, что заболевания абрикосов Таджикской ССР вызывает бактерия, сходная по своим признакам с Xanth. pruni. Эти же взгляды разделяет Взоров [4], который нашел эти заболевания в Азово-Черноморье. Горленко [7] отмечает, что в Советском Союзе, вероятно, широко распространено заболевание абрикосов и слив (и может быть, других косточковых), вызываемое Xanth. pruni. Горленко и Дьякова [8] указывают, что заболевание листьев косточковых, сопровождающееся выпадением ткани, возбудителем которого считали Clasterosporium carpophilum, в действительности вызывается бактериями. Они считают, что лишь детальное изучение возбудителя дырчатой пятнистости позволит установить причины этого заболевания. В последней работе Израильского [10] указывается, что бактериоз косточковых, вызываемый Xanth. pruni, отсутствует в Советском Союзе.

Необходимо отметить, что и в упомянутом исследовании Сербинова [13], к сожалению, не дана полная биохимическая характеристика возбудителя, и поэтому нельзя считать полностью доказанной принадлежность его к Xanth. pruni. Другие детальные исследования, посвященные изучению бактериальной дырчатой пятнистости абрикосов и других видов косточковых, в Советском Союзе отсутствуют.

Плохая изученность этиологии дырчатой пятнистости, несомненно, создает большие трудности при разработке мер борьбы с этим вредоносным заболеванием.

В настоящей статье приводятся результаты исследований, проведенных автором в 1952—1953 гг. по выяснению этиологии дырчатой пятнистости абрикосов в Краснодарском крае.

Распространенность и симптомы болезни

В Краснодарском крае многие хозяйственно ценные сорта абрикосов (Краснощекий и др.) в сильной мере страдают от дырчатой пятнистости.

Развитие болезни начинается обычно в конце апреля, начале мая, вскоре после распускания почек.

На молодых листьях при наличии влажной погоды в этот период образуются небольшие маслянистые, вначале едва заметные пятна. В дальнейшем пятна увеличиваются в размерах (0,5—10 мм в диаметре), приобретают желтовато-бурую, а затем коричневую окраску. Пятна бывают округлой или неправильной формы и разбросаны по всей пластинке листа. Через 2—3 недели, в зависимости от условий погоды, отмершие части листа выпадают и листовая пластинка приобретает продырявленный вид (отсюда название «дырчатая пятнистость»). Часто такие пораженные листья быстро опадают.

Необходимо отметить, что бактериальные пятна довольно трудно отличить от пятен, образующихся под действием грибов. У бактериальных пятен всегда отсутствует кайма краснобурого цвета, отделяющая здоровые ткани от пораженных, характерная при заболевании листьев клястероспориозом. Однако другие грибные организмы могут образовывать пятна, напоминающие бактериальные, и поэтому лишь по внешним признакам определить этиологию пятнистости бывает довольно трудно. Необходимо отметить, что на отмерших частях листа часто поселяются сапрофитные грибы из родов Macrosporium и Alternaria, которые затрудняют поиски настоящих возбудителей.

На ветвях образуются небольшие вначале водянистые пятна, позже буреющие. Они увеличиваются в размерах, происходит растрескивание с выделением камеди. Трещины превращаются затем в незаживающие язвы, которые постепенно (в течение ряда лет) увеличиваются в размерах. Под действием бактерий происходит, вероятно, гибель листовых почек, благодаря чему ветки остаются оголенными, напоминая по внешним симптомам монилиальный ожог.

На плодах симптоны бактериоза выражаются в следующем: сначала появляются на молодых плодиках круглые пятна красного цвета, постепенно увеличивающиеся в размерах; они сухие, часто немного вдавленные в мякоть плода. При сильном поражении плодов пятна сливаются, появляются многочисленные трещины. Отмершие поверхностные ткани плода часто отделяются в виде небольших чешуек, а изредка можно наблюдать на таких плодах выделение эксудата.

Выделение возбудителя и его свойства

В течение 1952—1953 гг. нами была проведена работа по выделению возбудителя дырчатой пятнистости из веток, листьев и плодов абрикоса, собранных в различных пунктах Краснодарского края. Выделения производились также из некоторых других видов косточковых (слива, персик, миндаль.)

Несмотря на неоднократные попытки, производившиеся в течение всего вегетационного периода, выделить гриб Clasterosporium carpophilum из пораженных образцов абрикосов нам не удалось. Этот гриб был выделен лишь из пораженных листьев сливы, однако пятнистость отличалась от бактериальной наличием вокруг пятен резко очерченного фиолетового ободка; удалось выделить гриб также из листьев миндаля. Хотя клястероспориоз косточковых и встречается в Краснодарском крае, он, несомненно, имеет ограниченное распространение. Здесь можно отметить недостаточную изученность биологии Clasterosporium carpophilum Ad. и противоречивые сведения по его биологии.

При анализах больных листьев без особого труда всегда выделялись бактерии, которые были подвергнуты нами детальному изучению. Всего

было выделено до 30 культур бактерий из различных видов косточковых (абрикосы, сливы, персики). Из них детальному изучению были подвергнуты 4 культуры. Они испытывались на патогенность как в лабораторных условиях (на плодах и срезанных ветках абрикоса и сливы), так и в естественных условиях (на ветвях абрикоса). Были получены вполне четкие положительные результаты, говорящие о том, что эти бактерии способны вызывать патологический процесс с симптомами, напоминающими развитие бактериоза в природе.

По своим морфологическим признакам выделенные бактерии представляют короткие подвижные палочки размером 0,8—1,2×1,2—2,0 μ, расположенные одиночно, реже попарно и цепочками, без спор и капсул. При росте на картофельном агаре образуют вначале белые, затем слегка желтеющие колонии кремового цвета, гладкие, блестящие, с ровными краями. Грамотрицательные, аэробы. При росте на картофеле образуют слизистые колонии кремового цвета, в мясном бульоне образуют поверхностную пленку. Желатину не разжижают; молоко пептонизируют, но не свертывают; в лакмусовом молоке пептонизация и свертывание; образуют кислоту лишь на глюкозе и сахарозе; газа не образуют; нитраты не восстанавливают; крахмал не гидролизуют; индол не образуют. Рост возможен в пределах температуры от 0 до 30° и выше. Оптимальная температура 20—25°.

Сравнивая свойства наших культур с описанием Xanth. pruni E. Smith, данным Смитом [18, 19], Ридом (Reed [16]), Рольфом (Rolfs [77]), изучавшими эти бактерии, можно констатировать ряд существенных отличий между ними.

В отличие от Xanth. pruni, наши культуры не имеют капсулы, а колонии не имеют зернистого строения. Они не обладали способностью разжижать желатину и гидролизовать крахмал. Кислоту образуют лишь на глюкозе и сахарозе, в отличие от Xanth. pruni, которая образует ее также на мальтозе, лактозе и глицерине. Культуры, выделенные нами, не способны были редуцировать нитраты, свертывать молоко и образовывать индол. В связи с этим описанный нами возбудитель не может быть отнесен к Xanth. pruni E. Smith.

В то же время проведенное нами сравнение свойств наших культур — по определителям Берджи [2], Бургвица [3], Красильникова [11] — со свойствами других возбудителей, паразитирующих на косточковых, не дает возможности отнести наши культуры к виду бактерий, описанному в литературе. Очевидно, здесь идет речь о новом фитопатогенном виде, вызывающем заболевание абрикосов, слив и, возможно, других видов рода Prunus. Этот вид бактерии мы называем Pseudomonas caucasicum sp. n.

Возможно, что в других географических районах подобное заболевание может вызывать Xanth. pruni.

Вопросы специализации этого нового вида бактерий, а также места его резервации в природе еще не изучены. Но можно уже сейчас констатировать, что больное абрикосовое дерево — один из главных источников инфекции при весеннем возобновлении болезни. Бактерии могут сохраняться в язвах больных веток, что было установлено прямым выделением их в весенний период после зимовки. Возможно, что возбудитель способен перезимовать и сохраняется в пораженных почках (это доказано в отношении Xanth. pruni).

Изучение всех этих вопросов имеет большое практическое значение и поможет установить эффективные мероприятия по борьбе с этим бактериозом.

Выводы

1. Дырчатая пятнистость абрикоса поражает многие хозяйственно ценные сорта этой культуры в Краснодарском крае.

2. В условиях Краснодарского края это заболевание вызывается в основном не грибом Clasterosporium carpophilum, а новым видом фитопатогенной бактерии, названным Pseudomonas caucasicum.

3. Больное пораженное дерево является одним из резерваторов возбудителя и источником возобновления болезни в весенний период.

Московская станция
защиты растений

Получено 16.III.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барбарин И. Е. Болезни культурных растений в Туркестанском крае. Журн. Туркестанское сельское хозяйство, 1913.
2. Берджи Д. Определитель микробов. Киев, 1936.
3. Бургвиц Г. К. Фитопатогенные бактерии. М.— Л., 1935.
4. Взоров В. И. Состав и распространение бактериозов с.-х. растений в Советском Союзе. Изв. Ростовской СТАЗР, № 9, 1938.
5. Веденеева З. С. О грибной болезни — «пятнистости» косточковых плодовых пород в Средней Азии. Ташкент, 1928.
6. Головин П. Н. Пятнистость косточковых пород плодовых деревьев и меры борьбы с ней. Ташкент, 1950.
7. Горленко М. В. Бактериальные болезни плодовых насаждений в СССР. Тезисы докладов XIX пленума секции. Защита растений ВАСХНИЛ, 1946.
8. Горленко М. В., Дьякова Г. А. Бактериальные болезни плодовых деревьев в СССР (обзор). Микробиология, XX, вып. 6, 1951.
9. Запрометов Н. Г. Из наблюдений над грибными болезнями культурных растений в Туркестане. Журн. Туркестанское сельское хозяйство, 1915.
10. Израильский В. П. (под редакцией). Бактериальные болезни растений. Сельхозгиз, 1952.
11. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, М., 1949.
12. Леонтьева М. В. Изучение и уточнение системы мероприятий по борьбе с пятнистостью косточковых. Итоги научно-иссл. работ ВИЗР за 1935. Л., 1936.
13. Сербинов В. И. Пятнистость абрикосов и борьба с этим заболеванием. Сталинабад, 1940.
14. Ячевский А. А. Бактериозы растений. М., 1935.
15. Aderhold R. Über Clasterosporium carpophilum (Lev.) Ad und Beziehungen desselben zum Gummiflusse des Steinobstes, 1902.
16. Reed W. D. Bacterial-spot of Plum and Peach. New Zealand Journal of Science and Technology, **26**, No. 6, 1945.
17. Rolfs F. M. A bacterial disease of stone fruits. Cornell university agriculture experiment station, No. 8, 1915.
18. Smith E. F. Observations on a hitherto unreported bacterial disease, the cause of which enters the plant through ordinary stomata. Science n. s., **17**, 1905.
19. Smith E. F. Bacterial infection by way of the stomata in black spot of the Plum. Science, XXI, 1905.

ПАРАЗИТИЗМ CORDYCEPS CLAVULATA В ОТНОШЕНИИ EULECANIUM CORNI (BOUCHE)

Г. Р. Ибрагимов

Грибные болезни насекомых давно привлекали к себе внимание естествоиспытателей. Начиная с 1754 г. и по настоящее время этому вопросу уделяется существенное внимание. Тем не менее до сих пор патогенные грибы почти не используются в борьбе с вредителями сельского хозяйства. Еще в 1879 г. гениальный русский ученый Мечников сообщил о возможности искусственного заражения личинок жука Anisoplia austriaca Hbst. паразитным грибом Metarrhizium anisopliae. Позднее (в 1886, 1888 гг.) русский энтомолог Красильщик [1] разводил данный гриб в лаборатории, а затем применял его в полевых условиях в борьбе с Anisoplia austriaca. Смертность насекомых в опытах Красильщика была от 50 до 80%. Указанные работы русских ученых послужили основой для применения грибковых паразитов в борьбе с вредителями сельского хозяйства на островах Яве, Самоа, Гавайских, Пуэрто-Рико и в других местах.

Затем за рубежом стали появляться работы, подтверждающие гениальные мысли Мечникова [2, 3].

Работы Холлоуэя и Юнга (Holloway a. Joung [4]), Фишера (Fischer [5]) и других биологов показали практическое значение применения энтомофильных грибов в борьбе с вредителями сельского хозяйства.

В настоящей работе мы задались целью ознакомить читателей с интересным фактом, имеющим место в условиях Азербайджанской ССР, о паразитировании патогенного гриба на акациевой ложнощитовке — Eulecanium corni (Bouche).

Грибы, паразитирующие на насекомых, относятся к порядкам Hypocreales и Laboulbeniales — из пиреномицетов. Представители второго порядка по численности видов занимают ведущее место — насчитывается более 600 видов грибов этого порядка, паразитирующих преимущественно на жесткокрылых насекомых в тропиках.

Род Cordyceps из порядка Hypocreales насчитывает 200 видов, большинство которых являются патогенными для гусениц и личинок некоторых насекомых и также щитовок в Европе. Представители последнего рода характеризуются эндофитным и эктофитным свойствами паразитизма. Тело насекомых пронизывается мицелием, мумифицируется и превращается в склероции, являющиеся приспособлением гриба для перенесения неблагоприятных условий.

Из склероциев затем вырастают стромы, в которых помещаются перитеции.

У многих видов стромы дифференцированы и обычно состоят из ножки и расширенной верхней плодоносящей части — головки. Иногда стромы не дифференцированы, и в таком случае они появляются в виде бугорков. Конидиальная стадия видов рода Cordyceps напоминает несовершенные грибы и известна под названием мускардины.

Изучаемый нами вид гриба по форме конидиального плодоношения относится к роду Isaria.

В 1949 г., обследуя микрофлору Закатало-Нухинской зоны Азербайджанской ССР, мы были свидетелями вспышки массового развития акациевой ложнощитовки. Последняя является весьма опасным вредителем мелкого ореха в условиях Азербайджанской ССР. Акациевая ложнощитовка распространена в СССР и является многоядным насекомым. Нами установлено, что потери урожая мелкого ореха от этого вредителя в условиях Закатало-Нухинской зоны Азербайджанской ССР ежегодно достигают 20—25%.

В период покоя плодовых деревьев в 1949—1950 гг. было обнаружено большое количество акациевой ложнощитовки, которое должно было дать вспышку летом 1950—1951 гг. Но большинство личинок вредителя не достигло половозрелости в 1950—1951 гг., покрылось сизым мучнистым налетом и погибло. Исследования показали, что причиной массовой гибели акациевой ложнощитовки в 1950 и 1951 гг. был Cordyceps clavulata (Schr.), Ell. et Ev. (syn. Xylaria clavulata (Schr.), B. et C.

По литературным данным известно, что этот грибок в 1908 г. был обнаружен в лесах Каринтии (Австрия) на лещинном (мелком) орехе в конидиальной стадии в виде Isaria.

Наблюдениями установлено, что возбудитель заражает как имагинальную, так и личиночную стадию акациевой ложнощитовки. Тело зараженных грибом насекомых приобретает мясисто-красную окраску. По мере высыхания тела ложнощитовок после их гибели окраска постепенно исчезает, и они в виде небольших сплюснутых черных бугорков с торчащими на них плодовыми телами гриба (рис. 1) плотно прилипают к ветвям мелкого ореха.

Конидии гриба бесцветные, яйцевидные или округлые, размером 5—8 × 2,5—3,5 μ. Возникают они на вертикально стоящих, бесцветных и по мере старения темнеющих конидиеносцах (3—4 μ высоты и 0,3—0,5 μ в диаметре). В условиях Азербайджанской ССР, начиная с июля, закладываются сумчатые стадии гриба в виде длинных конусообразных или шаровидных головок (рис. 2 и 3) с ножкой. Высота ножек не превышает 2—3 мм, диаметром 0,3 мм, а головок 0,5—1 мм.

Перитеции гриба погружены в особые мешковидные, толстостенные стромы с небольшими выходными отверстиями, размер которых достигает 180—250 × 80—100 μ. В этих перитециях помещаются веретеновидные или мешковидные, слегка согнутые сумки (рис. 4).

По данным одних авторов, величина сумок бывает 80—100 × 8—10 и в каждой сумке содержится по 8 нитевидных, очень длинных септированных, бесцветных спор размером 50—80 × 2,5—3 μ.

Наши измерения (100 экземпляров) показали, что преимущественно встречаются сумки величиной 81—130 × 7,8—12 μ, в среднем 107 × 9 μ. В каждой сумке содержится не 8 спор, как указывается в литературе, а 4 с 15—19 перегородками. Размер аскоспор 55—83,2 × 2,6—2,8 μ; в среднем — 73 × 2,8 μ (рис. 5). Нами выявлено, что до созревания перитеции в них образуется микроконидиальная стадия. Конидии этой стадии шаровидные, бесцветные 2,4—2,8 × 0,6—1,3 μ (среднее из 100); они беспорядочно заполняют полость будущих перитециев (рис. 6). Образование микроконидиальной стадии в перитециях данного вида гриба — явление, никем не описанное. При образовании сумок микроконидиальная стадия постепенно исчезает.

Весной и осенью, когда в Закатало-Нухинской зоне Азербайджана выпадают обильные дожди, грибок развивается особенно интенсивно.

Весной ложнощитовки, усиленно питаясь соком растений, из стадии личинок второго возраста постепенно переходят в имагинальную. Этот период совпадает с массовым выходом аскоспор гриба. Споры разносятся ветром, попадают на насекомых. При наличии ночной росы или капельной влаги споры легко прорастают, и мицелий их проникает в тело насекомого. Через 10—15 дней поверхность тела зараженных ложнощитовок

покрывается сизоватым налетом, состоящим из скоплений конидиеносцев и конидий гриба. В распространении гриба ложнощитовка играет немаловажную роль. С июля по сентябрь в исследованной нами зоне почти отсутствуют атмосферные осадки, вследствие чего конидиальная стадия за этот промежуток времени не играет существенной роли. Но в этот период на щитке зараженных еще весной ложнощитовок возникают многочисленные сероватые цилиндрические выступы, состоящие из ножек гриба без головок, т. е. без перитециев. Начиная с сентября, верхушечная часть ножки гриба утолщается, постепенно чернеет и превращается в строму с многочисленными (рис. 2, 3) камерами (по всей головке), в которых первоначально возникает микроконидиальная, а затем сумчатая стадия.

Функциональное значение микроконидий осталось нами не выясненным. В инфекции акациевой ложнощитовки они, повидимому, роли не

Таблица

Гибель акациевой ложнощитовки под влиянием гриба Cordyceps clavulata в естественных условиях

(По зонам)

Даты наблюдений в 1950 г.	Количество проб	Всего осмотрено акациевой ложнощитовки	Пораженных и погибших под влиянием гриба Cordyceps clavulata	
			количество	в %
Нижняя зона				
16.VI	10	593	339	57,1
12.VII	10	1035	622	60
17.VIII	10	858	476	55,4
Средняя зона				
19.VI	10	975	283	28
29.VII	10	1140	585	51,3
29.VIII	10	944	438	46,5
Верхняя зона				
20.VI	10	75	1	1,3
30.VII	10	120	2	1,6
1.IX	10	96	0,0	0

Примечание: Верхняя предгорная зона находится на высоте 800 м над уровнем моря, средняя — 300 м, а нижняя — примерно 150—200 м.

играют. Это объясняется тем обстоятельством, что период образования микроконидий совпадает со стадией подвижных личинок акациевой ложнощитовки, которые совершенно не заражаются несозревшими микроконидиями возбудителя. Созревания и выход аскоспор и способность их заражать насекомых появляются после зимовки. Нами установлено, что возбудитель легко выделяется в чистую культуру и на искусственных средах образует конидиальную и сумчатую стадию. Через 5—8 дней после пересева аскоспор в чистую культуру поверхность искусственных сред покрывается сероватым, хорошо заметным налетом гриба, состоящим из конидиеносцев и конидий. По истечении 30 и даже 45 дней из колонии гриба вырастают ножки, а затем на них образуются головки.

Паразит хорошо растет на искусственной среде в смеси с органическими соединениями, особенно с вытяжкой из ложнощитовок; растет так-

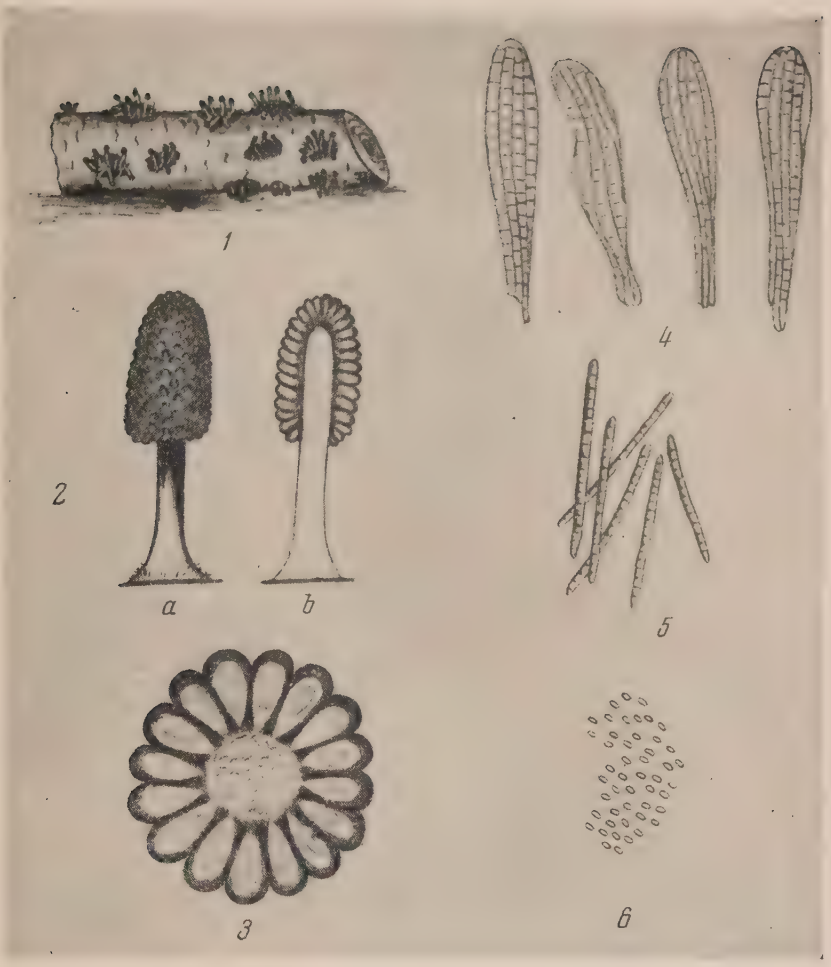

Рис. 1. Вид Cordyceps clavulata на зараженных и погибших телах Eulecanium corni

Рис. 2. Плодоносная головка гриба Cordyceps clavulata с ножкой: *a* — наружный вид, *b* — вид при продольном срезе (ув. 150×)

Рис. 3. Поперечный срез головки Cordyceps clavulata и общий вид отдельных камер в строме

Рис. 4. Сумки с аскоспорами Cordyceps clavulata

Рис. 5. Отдельные аскоспоры

Рис. 6. Микроконидии

же на рисовом агаре и на агаризованной среде, приготовленной из настоя листьев мелкого ореха.

Способность гриба хорошо расти на искусственных средах открывает возможность постановки широких производственных опытов по использованию его в борьбе с акациевой ложнощитовкой.

Опыты, проведенные в 1951 г. на отдельных ветвях мелкого ореха, показали, что после опрыскивания ложнощитовок суспензией из спор Cordyceps clavulata гибель насекомых достигает 85—98%. Опрыскивание лучше производить перед заходом солнца во избежание гибели спор при дневной высокой температуре. Наблюдения 1950 г. показали, что как ложнощитовка, так и ее грибковый паразит распространены неодинаково в предгорных, горных, средних и нижних зонах районов Закатало-Нухинской зоны Азербайджана. Численность акациевой ложнощитовки, а также процент их гибели под влиянием Cordyceps clavulata в предгорных районах значительно ниже, чем в нижних и средних (см. таблицу).

Из данных таблицы видно, что гибель акациевой ложнощитовки в нижней зоне Закатальского района значительно выше, чем в средней и особенно верхней или предгорной зоне. Временем активного развития гриба является период до июня. С июня начинается снижение гибели ложнощитовок в нижней и средней зонах. Акациевая ложнощитовка в предгорной зоне Закатальского района не имеет большого экономического значения.

Слабое развитие гриба в этой зоне, вероятно, связано с малой численностью ложнощитовки, а это в свою очередь — со сравнительно холодным климатом в предгорной зоне.

Приведенные данные говорят о перспективности использования гриба Cordyceps clavulata для борьбы с опасным вредителем мелкого ореха в условиях Азербайджанской ССР. Подготовка грибного материала для инфицирования насекомых не сложна. Не сложна и техника его применения: можно производить опрыскивание деревьев суспензией гриба или развешивать культуры гриба в саду.

Выводы

1. Причиной массовой гибели акациевой ложнощитовки в условиях Азербайджанской ССР в период с 1950 по 1951 гг. был грибковый паразит Cordyceps clavulata.

2. Cordyceps clavulata размножается в лабораторных условиях и образует конидиальную и сумчатую стадии.

3. Наиболее интенсивным периодом развития гриба в условиях Закатало-Нухинской зоны Азербайджана является весна и осень.

4. В условиях Азербайджанской ССР Cordyceps clavulata, кроме сумчатой и конидиальной, имеет еще микроконидиальную стадию.

В Закатальском районе Азербайджана Cordyceps clavulata широко распространен в нижней и средней зонах и значительно реже встречается в предгорной зоне.

Азербайджанская станция
защиты растений.
Баку

Получено 20.I.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильщик И. М. О грибных болезнях у насекомых. Зап. Новоросс. об-ва естествоиспыт., 11, 1886.
2. Мечников И. О вредных для земледелия насекомых. Вып. III. Хлебный жук. Болезни личинок хлебного жука. Одесса, 1879.
3. Мечников И. Zur Lehre über Insektenkrankheiten. Zool. Anz., 3, 44, 1880.
4. Holloway J. K. and Joung T. R., Jr, The influence of fungicidal sprays on entomogenous fungi and on the purple scale in Florida. J. Econ. Entomol., 36, 453, 1943.
5. Fischer F. E. Diseases of citrus insects, Ann. Rept., Florida Agr. Expt. Stat. (for year ending June 30, 1948), 1948.

ДИСКУССИОННЫЕ ВОПРОСЫ В РАБОТАХ ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО НАПРАВЛЕНИЯ В ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

А. В. Рыбалкина

В статье «Современное состояние и задачи микробиологии почв» Я. П. Худяков пишет, что работы экологического направления имеют большое познавательное значение, но до управления микробиологическими процессами в широком смысле еще далеко. По нашему мнению, необходимо установить, что следует понимать под экологическим направлением и может ли быть в почвенной микробиологии иное направление, кроме экологического.

С позиций мичуринской биологии, основой биологической науки является единство организма с условиями его существования. Жизнедеятельность организма можно представить себе только во взаимосвязи с окружающей его средой, т. е. комплексом окружающих его (организм) условий существования. Поэтому основная задача, поставленная Худяковым перед почвенной микробиологией, — «познание объективных законов единства и взаимодействия почвы, растений и микроорганизмов для управления микробиологическими процессами с целью повышения почвенного плодородия» — это и есть познание экологических условий существования микроорганизмов и возможности их изменения в нужном направлении. И все последующие вопросы, разбираемые Худяковым, сводятся к познанию деятельности микроорганизмов в почве, т. е. в естественных условиях их существования. Тем самым Худяков утверждает экологическое направление.

Эколого-географическое направление в почвенной микробиологии

У нас в СССР экологическое направление в почвенной микробиологии переросло в эколого-географическое. Представителями его являются Е. Н. Мишустин и Н. Н. Сушкина. В нашей стране, с ее огромными земельными пространствами — от тундры до южных пустынь, с разнообразными почвенно-климатическими условиями, это направление, по нашему мнению, является исключительно важным и перспективным не только для сельского хозяйства, но также для медицинской (в связи с развитием исследований по антибиотикам) и санитарной микробиологии. Поэтому мы считаем своевременным вынести на обсуждение некоторые неясные и часто противоречивые вопросы, возникшие в этом направлении, с тем, чтобы в процессе дискуссии договориться о принципах в подходе к эколого-географическому изучению микрофлоры почв.

Мишустин, занимающийся эколого-географическими исследованиями почти 30 лет, за период с 1946 г. по настоящее время опубликовал большое количество работ в этой области, и дискуссионные вопросы лучше всего выяснить на основе его исследований. Основной вопрос, разрабатываемый Мишустиным в последние годы, это роль спороносных бактерий в почвенных процессах [14, 16, 17, 18, 19]. Деятельность спороносных бактерий, по мнению Мишустина, связана в почве с трансформацией относительно стабильных форм органического вещества почв, возможно, уже вторичного происхождения, т. е. белка микробного синтеза. Богатство почвы спороносными бактериями и наличие в ней определенных ви-

дов данных микроорганизмов отражает направление почвообразовательного процесса и может характеризовать возраст почвы. «В почвах, разнящихся, по мнению Вильямса, в возрасте, содержится весьма характерная по количественному и качественному составу бациллярная микрофлора» [16]. Возникает ряд вопросов, на которые мы считаем необходимым обратить внимание.

1. В каком состоянии — активном или инактивном — находятся споровые бактерии в почве?

Из сопоставления статей Мишустина, напечатанных в 1948 [14] и в 1954 гг. [19], видно, что у самого автора нет еще установившегося взгляда по этому вопросу. Так, в статье «О роли спороносных бактерий в почвенных процессах [14] автор, возражая Конну, пишет: «...более чем странно думать, что большое число спороносных бактерий, достигающее нередко миллионов на 1 г почвы, извечно там находится в латентном состоянии»,— и далее «...единственным основательным ответом будет признание возможности активного размножения спороносных бактерий в почве» (разрядка наша, *А. Р.*). Ясно без комментариев, что Е. Н. Мишустин в 1948 г. придерживается того взгляда, что спороносные бактерии в почве размножаются активно. А в 1954 г. в статье «Закон зональности и учение о микробных ассоциациях почвы» на странице 8 он же пишет так: «Следует указать, что подавляющее большинство бацилл находятся в почве в состоянии спор. Конечно, из этого нельзя делать выводы о том, что спороносные бактерии извечно находятся в почвах в покоящемся состоянии». ...«но в общем бо́льшая их часть даже в благоприятные моменты вегетационного периода находятся в инактивной форме» (разрядка наша, *А. Р.*). Следовательно, в 1954 г. Е. Н. Мишустин почти согласился с точкой зрения Конна, против которой он выступал в 1948 г., нигде не указывая причин изменения своей точки зрения. На основании последней статьи его трудно представить, что организмы, большая часть которых даже в благоприятных условиях находится в неактивной форме и количество которых, как увидим дальше, по данным самого же автора, относительно невелико, могут играть активную роль в процессах почвообразования. Теперь, обратимся к следующему вопросу, логически связанному с первым.

2. Может ли количество бациллярных форм быть показателем направленности почвообразовательного процесса?

В статье «Учение Докучаева — Костычева — Вильямса о почве» [16] на стр. 17 Мишустин пишет, что при переходе с севера на юг число спорообразующих бактерий в почве закономерно увеличивается. «Подобная тенденция менее рельефно выражена на общем числе бактерий, т. е. на показателе, величина которого в основном определяется неспороносной микрофлорой». Спороносные бактерии дают, по его мнению, более сглаженную сезонную динамику, нежели неспоровые, «и это служит лишним доводом за использование их в качестве индикаторных организмов». Подтверждение сказанному мы находим и в статье [19] 1954 г., стр. 10. Для иллюстрации своих положений Мишустин приводит цифровой материал, собранный в табл. 1 [16], табл. 1 [17] и табл. 3 и 4 [19]. В отношении процентного содержания бациллярных форм к общему числу микробов в почвах различных зон автор приводит следующие данные: содержание споровых форм в тундровых почвах не превышает 1%, в лесолуговой для целинных почв — 12%, для окультуренных — 15% [17, стр. 8]. В целинных и окультуренных черноземах «удельный вес» бациллярных форм возрастает до 20—25%. В почвах сухих степей их содержится от 19,3 до 23%, в солонцах — 12%, в сероземах и бурых почвах 17—19,8% [17, табл. 1]. Приведенные данные

по процентному содержанию бациллярных форм в различных почвенных зонах подтверждают положение Мишустина о закономерном увеличении бациллярных форм при переходе с севера на юг только в отношении трех северных зон; что же касается южных зон, то здесь наблюдается тенденция к снижению их процентного содержания. Названные таблицы достаточно хорошо иллюстрируют сказанное. Но если проанализировать исходные показатели процентного содержания споровых форм, приведенные в табл. 1 [17], например, для целинных почв, на основании которых выведено среднее для зоны, то увидим, что близкие данные наблюдаются не

Некоторые данные из таблицы 1 (Почвоведение № 6, 1953, стр. 4—7).

Пределы колебаний общего числа бактерий и споровых бактерий. Числа даны в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы

Место взятия почвы	Почвы	Число обследованных точек	Пределы колебаний		Колебания % соотношения споровых к общему числу бактерий *
			общее число бактерий	из числа бактерий споровых	
II. Почвы лесолуговой зоны. Целинные почвы					
Молотовская и Московская области	Лесные подзолы	10	190—2120	40—257	21—12%
То же	Дерноволуговые	12	890—2700	75—350	8,4—12,9%
Ленинградская и Новгородская области	Верховые и низовые болота	20	500—2000	2—238	0,4—11,9%
III. Целинные степные почвы					
Воронежская область, Каменная степь	Обыкновенный чернозем	7	2300—4200	1170—2500	50—59%
Воронежская область, около Борисоглебска	То же	4	1200—4900	70—700	5,8—14%
Ворошиловградская область, Деркуль	„ „	3	930—3300	170—1150	18—34%
Харьковская область, около Харькова	„ „	2	910—2970	710—880	78—29%
V. Почвы сухих степей (целинные почвы)					
Сталинградская область, Аршань — Зелмень	Светлокаштановые	5	1670—2560	370—680	22—26%
Армения, Аштарак	Темнокаштановые	8	1130—1725	259—530	22—30%
Западный, Казахстан Джаныбек	Темноцветные луговые	5	1280—11460	360—1470	28—12,8%
VII. Сероземы и бурые почвы (целинные почвы)					
Азербайджан, Мильская степь	Серозем	16	317—2360	160—570	50—24%
Муганская степь	Серозем солончаковый	20	2240—9100	510—4400	22—48%
Армения, около Аштарака	Бурые почвы	4	1240—2890	305—815	24—28%

* Вычислено нами, — *А. Р.*

во всех зонах. Так, в степной зоне колебания процента споровых бактерий к общему количеству микробов составляют от 11 до 32 в целинных и от 11 до 57% в окультуренных, в солонце от 6 до 18%. Но эти исходные для каждого типа почв в зоне являются в свою очередь средними, которые выведены в результате обследования нескольких точек. На основании табл. 1 [17] нами вычислено процентное содержание споровых бактерий к общему числу бактерий, исходя из максимальных и минимальных величин общего количества бактерий и бациллярных форм. Эти данные, сведенные нами в таблицу (стр. 708), показывают, что процентное содержание споровых к общему числу бактерий колеблется: для целинных почв лесолуговой зоны от 0,4% до 21%; для почв степной зоны — от 5,8 до 78%, для почв сухих степей 12—30%, сероземов и бурых почв — 22—50%. А если привести процентное содержание бациллярных форм из табл. 1 [16], то, например, для лесотундры процент споровых к общему количеству бактерий колеблется от 15—16 до 30% [1], причем 15 и 16% споровых содержится как в почве неокультуренной, так и бывшей под культурой в течение двух лет, а 30% бациллярных форм содержится в почве из-под свежей раскорчевки леса (следовательно, неокультуренной) и бывшей под культурой в течение семи лет. В работе Мишустина [15, табл. 2 и 3] на контрольной делянке Института картофельного хозяйства Московской области (почва супесчаная; история поля не дана) процентное содержание бациллярных форм к общему числу бактерий за период с 16 мая по 15 июля колеблется от 19,2 до 79,8%, а на контрольной делянке в опыте на Ленинских горах с 8 июля по 2 сентября — от 26,6 до 73%. В более ранней работе того же автора [12, табл. 1] процент спороносных бактерий к общему числу бактерий, по нашим вычислениям, приведен в таблице на данной странице.

	Целинные	Окультуренные
Тундра (северные подзолы) . . .	16%	10%
Средняя полоса (подзолы)	9,3%	75%
Степь (чернозем)	5%	10%
Зона пустыни (сероземы) . .	6,1%	8%

На основании данных, приведенных из различных работ Мишустина, оказывается, что группа споровых бактерий, даже для одного типа почв, дает очень резкие колебания. Поэтому различия в процентном содержании споровых бактерий между отдельными зонами выглядят очень незначительными по сравнению с различиями почв внутри зоны. Очевидно также, что количественное содержание споровых бактерий неустойчиво и по отдельным годам и даже в течение одного сезона, как это видно из работ самого Мишустина. Поэтому средние показатели количества бациллярных форм по зонам, на основании которых Мишустин строит общие закономерности, являются весьма сомнительным показателем направленности почвообразовательного процесса.

Из работ Мишустина с несомненностью вытекает, что биогенность почв южных зон (каштановых, бурых и сероземов) значительно выше по сравнению с почвами северных зон, и его данные являются прекрасным подтверждением уже имеющихся по этому вопросу данных других исследователей, сведенных Кононовой [5] в табл. 51.

3. Может ли видовой состав спороносных бактерий отражать направление почвообразовательного процесса и характеризовать возраст почв?

Мишустин особенно большое значение придает анализу видового состава бациллярных форм. В статье [16] на странице 16 он пишет: «Учет общего числа бациллярных форм в почве может дать некоторые интерес-

[1] Вычислено нами по графе «На 1 г органического вещества» (*А. Р.*).

ные моменты, но для глубокого понимания почвообразовательного процесса необходимо приблизиться к анализу состояния в почве отдельных видов данной группы микроорганизмов». Значение видового состава почвенной микрофлоры подчеркивается и в других его работах ([17], стр. 1; [19], стр. 6). К доминирующим спорообразующим бактериям почвы Мишустин относит следующие виды: Bac. agglomeratus, Bac. asterosporus, Bac. cereus, Bac. idosus, Bac. virgulus, Bac. megatherium, Bac. mesentericus и Bac. subtilis.

По нашему мнению, в вопросе о доминирующих видах споровых бактерий в различных почвенных зонах также нет ясности. Так, в статье [16, табл. 2] Bac. cereus распространяется в большом количестве (++) от тундры до лесной зоны включительно, а в меньших количествах (+) он распространяется южнее, включая зону пустыни. В статье «Микроорганизмы и плодородие почвы» [18, стр. 25] Bac. cereus вместе с Bac. agglomeratus доминирует в почвах тундры, а в работе [19, стр. 14] сказано: «Так в почвах тундры явно доминирует Bac. agglomeratus и Bac. asterosporus». Bac. cereus исчезает из тундры и появляется в подзолистой зоне. «Для лесных почв подзолистой зоны характерно присутствие Bac. cereus, Bac. mycoides и Bac. virgulus» (разрядка наша, *А. Р.*). На рис. 3 (там же, стр. 15) развитие Bac. cereus заканчивается лесолуговой зоной, а в табл. 5 (там же, стр. 13) Bac. cereus оказывается даже в пустыне.

По анализам Рунова [23], Bac. cereus имеет столь же широкое распространение в подзоне южных черноземов (Деркульская степь Ворошиловградская область) как и Bac. megatherium. Средние данные, вычисленные нами на основании трех сроков анализа по табл. 6, стр. 191, статьи Рунова, показывают:

Целинная степь	В тысячах на 1 г почвы	
Глубина взятия образца	Bac. cereus	Bac. megatherium
0—10	87	110
11—20	40	25
21—30	24	4
В сумме для слоя 0—30 см	151	139

По данным Мишустина, приведенным из табл. 5, стр. 13 [19], следует:

Луговая степь и степь. Черноземы средней и южной зоны (в тысячах на 1 г почвы)

	Bac. cereus	Bac. megatherium
Целинные почвы . . .	30	420
Окультуренные почвы .	40	200

Примерно такова же судьба Bac. idosus. В статье [16] на табл. 2 Bac. idosus начинает свое существование в значительном количестве (+) с окультуренных почв лесной зоны, в степной зоне и зоне сухих степей и пустынь он достигает больших количеств (+). В статье [18] на стр. 25 он пишет: «Некоторые микробные группировки в большом числе обнаруживаются лишь в почвах определенных типов». Так, Bac. agglomeratus и Bac. cereus доминируют в почвах тундры. «Bac. idosus и Bac. mycoides в подзолах». В статье [19] на табл. 5, стр. 13 Bac. idosus достигает своего максимума — 450—700 тысяч на 1 г почвы в черноземах средней и южной зоны, а на рис. 3 страницы 15 (там же) его развитие в большом количестве начинается с «луговых» целинных почв лесолуговой зоны и продолжается на юг до зоны пустынь включитель-

но; в тексте же на стр. 14 Мишустин пишет: «Для лесных почв подзолистой зоны характерно присутствие Bac. cereus, Bac. mycoides, Bac. virgulus. В более южных почвах данные микроорганизмы практически исчезают, но в большом числе появляются Bac. idosus и Bac megatherium.

По данным Рунова [23], Bac. idosus для почв целинной степи в южной подзоне степной зоны за исследованный период оказался доминирующим микроорганизмом по отношению к другим бациллярным формам. Среднее их количество на 1 г почвы равно 454 тыс. (табл. 6, стр. 191). В работе Мехтиева [10], проведенной под руководством Мишустина, приводятся в табл. 18, на стр. 100 следующие данные по видовому составу спорообразующих бактерий различных угодий дерновоподзолистой почвы Московской области (в тыс. на 1 г почвы):

	Общее число споровых бактерий	Bac. idosus	Отношение Bac. idosus к общему числу споровых бактерий в %*
Лес. гор. A_1	627	148	23,6
Опушка леса, A_1	857	283	33

* Вычислено нами. *А. Р.*

В статье Мишустина ([19], табл. 5) для лесолуговой зоны лесные почвы в графе «Количество» Bac. idosus написано: «малочисленны», т. е. менее 10 тыс. на 1 г почвы.

Таким образом, из сравнения различных статей Е. Н. Мишустина можно сделать вывод, что Bac. idosus имеет распространение от подзолов до сероземов.

Меньше данных по Bac. megatherium. В статье Мишустина ([16], табл. 2) Bac. megatherium появляется в значительном количестве в неокультуренной почве степной зоны и зоны сухих степей и пустынь. В статье [18, стр. 25] Bac. megatherium вместе с Bac. mesentericus доминирует в каштановых почвах и сероземах. В статье ([19], табл. 5, стр. 13) Bac. megatherium имеет максимум 420 т на 1 г почвы в черноземах средней и южной зоны, а по данным Рунова [23], Bac. megatherium в зоне южных черноземов количественно представлен почти одинаково с Bac. cereus — 139 тыс. на 1 г почвы и доминирующим не является. Таким образом, при использовании одинаковых методик результаты исследований различных авторов (Мишустин, Рунов, Мехтиев) да и у самого Мишустина крайне неустойчивы. Какую же стадию почвообразовательного процесса отражают Bac. cereus, Bac. idosus, Bac. megatherium?

Законно возникает вопрос: для какого же типа почв эти организмы являются индикаторами? По нашему мнению, видовой состав бациллярных форм при современном состоянии наших знаний об этой группе организмов также не может быть надежным показателем направленности почвообразовательного процесса.

Ввиду отсутствия явно выраженной закономерности в размещении рассмотренных видов споровых бактерий в различных почвенных зонах, по нашему мнению, бациллярные формы пока еще не могут быть и показателем возраста почвы. По исследованиям Крисса [8], в тундровых и полярно-пустынных почвах Арктики количество спороносных бактерий в обусловленных им почвах было бо́льшим, чем неспоровых палочек. В глееватой, горной и щебенчатых почвах на острове Врангеля число спороносных бактерий относительно к общей массе микроорганизмов с

глубиной увеличивалось. В лишайнике Gyrophora proboscidea на острове Колючин споровые бактерии оказались единственными представителями бактериального населения. На основании таблицы, приведенной в работе Крисса, количество спороносных бактерий для некоторых образцов в пять раз выше, чем неспоровых палочек и кокковых форм. По произведенному нами подсчету, на основании материалов Крисса, количество споровых форм по отношению к общему числу колоний (в которые Крисс включает неспоровые и споровые палочки, кокки, микобактерии, актиномицеты и проактиномицеты и грибы) составляет для различных образцов анализируемых им почв от 2 до 37%. По видовому составу спороносные формы принадлежали к Bac. mycoides, Bac. megatherium, Bac. mesentericus, Bac. subtilis и др.

По исследованиям Александровой [1], в примитивных почвах Северного Кавказа содержатся различные виды споровых бактерий, и среди них встречаются Bac. mesentericus, Bac. idosus, Bac. luteus и в единичных случаях — Bac. mycoides. Эти данные показывают, что и в тундровой зоне могут быть такие экологические условия, при которых развиваются организмы, близкие по количественному и одинаковые по видовому составу с организмами, развивающимися в почвах более южных зон. А поэтому выводы Е. Н. Мишустина относительно определения возраста почв по количественному и видовому составу бациллярных форм и актиномицетов нам представляются недостаточно обоснованными, так как тундровые, полярно-пустынные или примитивные почвы едва ли могут быть старше или даже одного возраста с черноземами.

Мишустин в последней статье [19] высказывает взгляды об отсутствии приспособляемости у споровых бактерий к климату. Несмотря на явную противоречивость этих новых взглядов с прежними его же собственными данными, они изложены в декларативной форме. Его труд «Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий» [13] посвящен изучению влияния климатического фактора, главным образом температуры, на свойства почвенных бактерий. На стр. 173 этого труда сказано, что «совокупность изложенного материала позволяет вполне определенно утверждать о наличии у Bac. mycoides определенной адаптивной реакции к условиям климата». А на стр. 197 там же автор пишет: «Считая, что приспособление к температурным условиям климата у почвенных микробов является массовым явлением, мы в данной работе сосредоточили внимание не на каких-либо определенных физиологических группах бактерий почвы, а изучали без особого выбора выделенные культуры», так как, по его мнению, «анализируемая закономерность, в случае ее наличия, должна проявляться у всех групп почвенного микронаселения».

Среди изученных культур были неспоровые и споровые бактерии: Achromobacter, Pseudomonas, Bac. vulgatus, Bac. subtilis. Результаты опытов с этими организмами, как сообщает Мишустин на стр. 208, «дают довольно закономерную картину повышения оптимальных и максимальных температур у почвенных бактерий с переходом из северных районов в более южные». А в 1954 г. ([19], стр. 19) он же считает, что взгляд на одинаковый характер изменчивости у разных микробов (например, тождественное изменение в отношении к температуре, осмотическому фактору и т. д.) можно считать чрезмерно упрощенным. В качестве иллюстрации новой точки зрения приведем его высказывания там же, на стр. 20: «Совершенно очевидно, что каждый микроорганизм занимает в почве определенную «биологическую нишу», и это определяет характер его экологической изменчивости». «Неспороносные бактерии, развивающиеся на первых фазах минерализации органических веществ, выдерживают конкуренцию из-за способности их быстро захватывать питательный субстрат. Неудивительно поэтому (?!), что они выявляют приспособительную реакцию к температурным условиям среды. Относительно же поздно заселяющие субстрат виды микробов, утилизирующие остатки, как

актиномицеты и большинство бацилл, не показывают приспособительной реакции к температурным условиям климата». А как же быть с Bac. mycoides, Bac. subtilis и Bac. vulgatus?

Мы считаем приведенные объяснения новой точки зрения Мишустина о приспособляемости микроорганизмов не только ничего не разъясняющими, но дезориентирующими исследователя.

4. Несколько замечаний о теоретических положениях Е. Н. Мишустина

Исходным материалом для построения теории о роли спороносных бактерий в почве послужили статьи Мишустина и Тимофеевой [11], а также Красильникова и Никитиной [7] о смене микробных форм при разложении растительных остатков. Основываясь на упомянутых работах, Мишустин [14] на стр. 205 высказывает положение, что молодые почвы, не обогатившиеся органическим веществом, свойственным почве, весьма бедны спороносными бактериями. «По мере формирования почвы как естественно-исторического тела удельный вес спороносных бактерий возрастает» и дальше: «лишь при появлении органического вещества, свойственного собственно почве, заметно возрастает удельный вес спороносных бактерий». Спороносные бактерии связаны с превращением малоподвижных форм органических остатков почвы, образующихся в результате деятельности неспоровых форм. «Постепенное обогащение субстрата белком микробного синтеза делает возможным и успешный рост бацилл».

Что следует понимать под выражением «органическое вещество, свойственное почве»? Вероятно, Мишустин имеет в виду гумус? Действительно, почвы различных типов отличаются и по процентному содержанию гумуса и по качественному его составу. Эти данные имеются в работах Тюрина [27] и в монографии Кононовой [5] (табл. 58, стр. 223), но тогда почему, например, гумус мощного чернозема будет веществом, свойственным почве, а гумус подзолистой почвы не будет свойственным собственно почве? Если по процентному содержанию и качественному составу гумуса (с привлечением и других показателей) судят о типе почвы, значит, гумус каждой почвы будет для нее свойственным.

В статье [19] на стр. 4 для иллюстрации своего положения о легкомобильных и малоподвижных формах органического вещества Мишустин приводит табл. 1, составленную им на основании данных Тюрина и Кононовой, и дает ей следующее объяснение: «Показатели по гумолигнину также свидетельствуют об обеднении органического вещества южных почв легкомобильными фракциями. Относительно нестойкие против воздействия микробов битумы, в больших количествах содержатся в северных почвах».

а) Термин «гумолигнин» в последние 10—15 лет в работах Тюрина и Кононовой не встречается. Очевидно, материал для таблицы взят был из старых работ этих авторов.

б) Как могут в почвах накапливаться нестойкие соединения (мы имеем в виду битумы), да еще при высокой населенности «северных» почв неспоровыми бактериями, которые, по мнению Мишустина, используют нестойкие органические соединения? В отношении же битумов здесь явное недоразумение. В монографии «Органическое вещество почв» на стр. 62 Тюрин битумами называет «...смесь восков, измененных смол и продуктов превращения непредельных жирных кислот». Вещества, близкие по строению к смолам и воскам, как показали работы Таусона, подвергаются воздействию микроорганизмов в хорошо аэрируемых условиях, но причислить их к относительно нестойким нет никаких оснований. И если в почвах «севера» они содержатся в больших количествах, то в этих условиях почвообразования битумы являются стойкими и будут

принадлежать к группе малоподвижных веществ, следовательно, по теории Мишустина, они должны были бы обусловливать развитие спороносных форм в почвах «севера».

в) Если принять положение Мишустина, что деятельность спороносных бактерий связана с трансформацией относительно стабильных форм органического вещества, в том числе веществ вторичного происхождения, т. е. белка микробного синтеза, то не понятно, почему в тундровых почвах споровые формы бактерий так малочисленны. По его же данным, тундровые почвы богаче неспоровыми бактериями, чем подзолистые и даже черноземные. Количество неспоровых, вычисленных по данным Мишустина, табл. 3 на 1 г почвы в тысячах [19]:

Тундрово-глеевые	2027
Подзолистые	840
Черноземы	1550

Следовательно, и белок микробного синтеза там должен накапливаться в бо́льших количествах. Поэтому, следуя рассуждениям Мишустина, споровых бактерий в тундрово-глеевых почвах должно быть больше.

На основании вышеизложенного мы считаем, что Мишустин переоценил индикаторные свойства споровых бактерий. Полученные им результаты не имеют характера явно выраженной закономерности. И на основании опубликованных им данных ни по количественному, ни по видовому составу бациллярных форм судить о генезисе почв нельзя.

Так как теоретические положения о роли спороносных бактерий в процессах почвообразования основываются на особенностях в составе органического вещества различных почв, то нам кажется наиболее правильным выслушать мнение по этому вопросу специалистов по органическому веществу почв.

Мишустин и Сушкина, работая в области эколого-географического направления почвенной микробиологии, шли принципиально различными путями. Как мы уже видели, Е. Н. Мишустин исследованные им микроорганизмы различных почв внутри зоны сводит к средним показателям для всей зоны. Поэтому экологические условия развития организмов учтены лишь в самом общем зональном аспекте. Основываясь на данных Мишустина, становится непонятным, зачем в этом случае нужно проведение такой огромной работы с исследованием отдельных почв рассматриваемой зоны. Очевидно, почти тот же эффект можно иметь, смешивая образцы различных почв данной зоны (например, подзолистых, болотных, дерново-подзолистых, аллювиальных и др.) вместе, и, получив некую среднюю пробу для всей зоны, подвергнуть ее микробиологическому анализу. Теоретические обоснования Е. Н. Мишустин приводит также для зоны в целом.

Сушкина [25], работавшая вместе с почвоведами, подошла к изучению распространения азотобактера в почвах СССР, учитывая ряд конкретных экологических условий, основываясь на выводах докучаевского почвоведения. Такой принцип дал Сушкиной возможность получить определенную закономерность. По ее данным, расселение азотобактера идет по рекам, на террасах он встречается реже и совершенно отсутствует на водоразделах. Если бы Сушкина взяла средние показатели для зоны, как это сделал Мишустин, то неизбежно пришла бы к выводу, что азотобактер присутствует во всех зонах.

Все изложенное свидетельствует о том, насколько сложен вопрос экологического и эколого-географического изучения микроорганизмов в такой среде, как почва.

В общих чертах будущие экологические и эколого-географические исследования мы представляем себе так: почвенный микробиолог на первом этапе своих исследований должен быть связан с почвоведом-географом,

от которого он получит общие представления об интересующей его почве. Это послужит микробиологу исходным материалом для учета и воспроизведения соответствующих экологических условий, а при широких географических исследованиях поможет создать рабочую гипотезу по тому вопросу, который он собирается выяснить. Кроме общих сведений, большое значение имеет правильность выбора типичного участка исследуемой почвы.

Второй этап — изучение микрофлоры избранных почв. Здесь микробиолог должен быть связан с химиком, физиком, физико-химиком, минералогом и другими специалистами-почвоведами: от них он получит более детальные сведения об исследуемой почве. Сопоставляя полученные данные с изучением микрофлоры, он составит себе более глубокое представление об экологической обстановке изучаемых им микроорганизмов, а тем самым и об их роли в конкретных проявлениях почвообразовательного процесса. Изучение микроорганизмов в определенных типах, подтипах и разновидностях почв поможет микробиологу активно включиться и в управление микробиологическими процессами в этих почвах.

Третий этап — сравнение микрофлоры изученных определенных таксономических и географических групп почв по почвенным зонам, но не по средним данным, полученным для различных почв в пределах всей зоны. В качестве иллюстрации сравнительного изучения почв по зонам приведем высказывания Неуструева ([20] стр. 63): «Так, хотя болотные почвы различных климатических зон и отличаются друг от друга, однако о б щ н о с т ь о д н о г о г л а в н о г о у с л о в и я, и х р е ж и м а — п е р е н а с ы щ е н и я в л а г о й (разрядка наша, *А. Р.*), создает общность анаэробного характера эволюции их органической и минеральной массы, вытекающую отсюда подвижность железа и глеевый характер перенасыщенных водой горизонтов», и дальше — в отношении глеевого горизонта болотных почв различных климатических зон: «Конечно, привходящие условия изменяют глеевые горизонты почв, обогащая или обедняя их солями, гумусом и пр., но все-таки глееобразование сохраняется и в подзолистой зоне и в зоне полупустынных туркестанских степей».

Последний этап работы микробиолога — это выводы, на основании которых строится теория или закон, подтверждающий первоначальную рабочую гипотезу или опровергающий ее. На основании полученной теории или закона — практические выводы для внедрения в сельскохозяйственное производство. Эта схема требует детальной разработки многих частностей, но здесь не вызывает сомнений, что между почвенной микробиологией и почвоведением должна быть самая тесная связь, которой пока нет.

О методах в почвенной микробиологии

Худяков совершенно правильно ставит вопрос о необходимости создания новых методов, которые позволили бы изучать микрофлору в самой почве. Большое внимание также уделяет он критике старых методов и методов непосредственного наблюдения микрофлоры в почве Виноградского и Холодного и считает, что они имеют ограниченное значение при управлении микробиологическими процессами в почве.

Мы считаем, что универсальных методов нет и быть не может. Любой метод, как бы он хорош ни был, будет ограниченно пригоден, и беда не в этом. Нашим общим недостатком является то, что мы при отсутствии новых методов неполностью используем старые методы. Методика Холодного существует около 30 лет, а работ, проведенных с использованием ее, не больше 25. И как бы эта методика ограничена ни была, в сочетании с другими методами она может дать много полезного. На основании наших, еще не опубликованных экспериментальных данных с агаризованными стеклами мы склоняемся к мнению, что в микрофлоре почвы следует различать потенциальную населенность данной почвы, т. е. получа-

емую при высеве на питательные среды, и активную, развивающуюся на стеклах в данных конкретных условиях. Этот метод позволяет улавливать более тонкие различия в деятельной микрофлоре в данных конкретных условиях, что нивелируется методом высева. Кроме того, методом агаризованных стекол мы наблюдаем совершенно новые явления, которые приближают нас к объяснению микробиологических процессов, совершающихся в почве. Например, в опытах Джаныбекского стационара АН СССР на плантажированном солончаковом солонце (при перемещении на поверхность гипсового горизонта) высеян трехкомпонентный комплекс трав. На основании исследований, проведенных стационаром, установлено, что в течение сравнительно короткого времени в почвах под травами происходит уменьшение содержания солей в верхних горизонтах и перемещение их в более глубокие. На агаризованных стеклах, поставленных в этом опыте, и особенно на плантажированном участке с посадками дубов (здесь стекла ставились вдали от дубков, следовательно, вне действия корневой системы растений) мы обнаружили большое количество кристаллов различной величины. Эти кристаллы были окружены бактериями или покрыты сплошь ими, и тогда кристаллы были видимы только в поляризованном свете. По определению Ярциловой, наблюдаемые нами кристаллы являются кристаллами гипса. Если нам удастся доказать (конечно, уже с применением других методов), что вокруг кристаллов гипса бактерии создают подкисление среды, способствуют рассолению почвы и тем самым улучшают условия развития растений, то мы считаем, что в этом случае наши исследования будут иметь не только познавательное, но и практическое значение.

По нашему мнению, методику Холодного игнорировать пока не следует, есть еще много возможностей для ее усовершенствования. Например, для сильно влажных почв и почв тяжелого механического состава мы применяем упаковывание агаризованных стекол в мешочки из выщелоченной стеклянной ткани. Это не мешает развитию микроорганизмов, сохраняет агар и предохраняет препарат от прилипания почвы. Возможно также, что применение фазово-контрастной микроскопии позволит рассматривать препарат в нефиксированном состоянии и выделять интересующие нас организмы непосредственно с агаризованных стекол.

Одной из причин теоретического отставания в почвенной микробиологии мы считаем недостаточное использование последних достижений общей микробиологии и других смежных наук как в вопросах теории, так и в заимствовании методов. Изучение ферментов и витаминов, применение методов хроматографии, меченых атомов, микрохимических методов пока еще не находят у нас широкого распространения. Например, об эффективности малых доз навоза при совместном внесении с минеральными удобрениями говорят достаточно много, но объяснения этому явлению до сих пор нет. А почему бы на основании данных по витаминному питанию микроорганизмов, которые имеются у Иерусалимского [3], Мейселя ([9] см. гл. XI) и др., не провести работу по определению витаминных свойств навоза и перегноя? Известно также о потребности в витаминах некоторых почвенных микроорганизмов (Рыбалкина [24], Работнова [22] и др.). Возможно, что с внесением малых доз навоза или перегноя дается витаминное питание и растениям и некоторым видам микроорганизмов. Повышение активности даже одной группы микроорганизмов может повлечь за собой изменение в составе микробного комплекса почвы в благоприятном для растения направлении.

Худяков стремится доказать, что наша беда в том, что почвенные микробиологи, работая с чистыми культурами, переносят полученные результаты на процессы, протекающие в почве. Конечно, такие явления еще наблюдаются, но после работ Виноградского они не носят общего характера. Судя по выходящей литературе, почвенные микробиологи мало работают с чистыми культурами, и физиология почвенных организмов у нас

разрабатывается недостаточно. По нашему мнению, почвенным микробиологам следует сделать упрек, что они в этой части отошли от хороших традиций классиков нашей науки. В изучении чистых культур нам еще много недостает. Например, при непосредственном наблюдении микрофлоры в почве мы легко различаем те группы микроорганизмов, которые детально изучены. Поэтому монографии С. Н. Виноградского [2] и В. Л. Омелянского [21] по анаэробным азотофиксаторам и азотобактеру, Красильникова [6] по актиномицетам, Имшенецкого [4] по целлюлозным бактериям оказывают большую помощь в наших исследованиях. Но очень большие затруднения испытываются с определением споровых аммонификаторов; здесь, по нашему мнению, в определение видов этих организмов вносится много субъективного. Очень плохо обстоит с определением неспоровых бактерий. В почвенной микробиологии при массовых анализах нужны быстрые методы определения микроорганизмов. Нам кажется, что следует поставить вопрос перед специалистами в области общей микробиологии о систематике вышеуказанных групп, но с учетом экологической обстановки существования их в природе, т. е. выделение из определенных почв, как это уже начинают проводить в своих работах некоторые медицинские научно-исследовательские учреждения. Неудовлетворительно обстоит дело с определителями бактерий, часто даются слишком общие характеристики отдельных видов, почти отсутствуют фотографии колоний, штрихов, не всегда имеются данные по истории развития организма, а без этих сведений непосредственное изучение микроорганизмов в почве сильно затрудняется.

Получено 1.VIII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова И. В. Процессы гумусообразования в некоторых примитивных почвах. Почвоведение, № 10, 604. 1951.
2. Виноградский С. Н. Микробиология почвы. Изд. АН СССР. 1952.
3. Иерусалимский Н. Д. Азотное и витаминное питание микробов. Изд. АН СССР. 1949.
4. Имшенецкий А. А. Микробиология целлюлозы. Изд. АН СССР. 1953.
5. Кононова М. М. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения. Изд. АН СССР. 1951.
6. Красильников Н. А. Лучистые грибки и родственные им организмы. Изд. АН СССР, 1938.
7. Красильников Н. А. и Никитина Н. И. Влияние разлагающихся корней на состав микрофлоры в почве. Почвоведение № 2, 132, 1945.
8. Крисс А. Е. Микроорганизмы тундровых и полярно-пустынных почв Арктики. Микробиология, XVI, вып. 5. 1947.
9. Мейсель М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов. Изд. АН СССР. 1950.
10. Мехтиев С. Я. Микрофлора дерново-подзолистых почв и влияние на нее некоторых приемов вспашки. Диссертация на степень кандидата с.-х. наук. Почвенный ин-т АН СССР. 1953.
11. Мишустин Е. Н. и Тимофеева А. Г. Смена микрофлоры при процессе разложения органических остатков в связи с развитием в почве Bac. mycoides. Flügge. Микробиология, XIII, 272, 1944.
12. Мишустин Е. Н. Микробиологическая диагностика состояния почвы. Советская агрономия, **10**, 61. 1946.
13. Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. Изд. АН СССР. 1947.
14. Мишустин Е. Н. О роли спороносных бактерий в почвенных процессах. Микробиология, XVII, вып. 3, 201, 1948.
15. Мишустин Е. Н. Соотношение бактериальных форм в почве как показатель ее самоочищения. Сборник «Загрязнение и самоочищение внешней среды». Изд. АМН, 116, 1949.
16. Мишустин Е. Н. Учение Докучаева — Костычева — Вильямса о почве. Микробиология, XIX, вып. 1. 1950.
17. Мишустин Е. Н. и Мирзоева В. А. Соотношение основных групп микроорганизмов в почвах разных типов. Почвоведение, № 6. 1953.
18. Мишустин Е. Н. Микроорганизмы и плодородие почвы. Природа № 10, 24 1953.

19. Мишустин Е. Н. Закон зональности и учение о микробных ассоциациях почвы. Успехи совр. биол., 37, вып. 1. 1954.
20. Неуструев С. С. О почвенных комбинациях равнинных и горных стран. Почвоведение № 1, 62. 1915.
21. Омелянский В. Л. Связывание атмосферного азота почвенными микробами. Петроград, 1923.
22. Работнова И. Л. и др. О некоторых особенностях физиологии Clostridium Pasteurianum. Микробиология, XXI, вып. 4. 1952.
23. Рунов В. Е. Микрофлора черноземов под лесными насаждениями в Деркульской степи. Тр. Ин-та леса, 15, 182. 1954.
24. Рыбалкина А. В. К сравнительной характеристике некоторых почвенных микроорганизмов. Тр. Почвенного ин-та АН СССР, 38. 1951.
25. Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР, Изд. АН СССР. 1949.
26. Тюрин И. В. Органическое вещество почвы. Сельхозгиз. 1937.
27. Тюрин И. В. Географические закономерности гумусообразования. Тр. юбилейной сессии, посвященной столетию со дня рождения В. В. Докучаева. Изд. АН СССР, 1949.
28. Худяков Я. П. Современное состояние и задачи микробиологии почвы. Микробиология, XXIII, вып. 3, 1954.

О ФИЗИОЛОГИИ СЕРНЫХ И НЕСЕРНЫХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ

(Обзор)

Е. Н. Кондратьева

Одной из важнейших задач современной биологии является всестороннее исследование проблемы фотосинтеза. В связи с этим, наряду с зелеными растениями, большой интерес представляет изучение двух групп микроорганизмов — пурпурных и зеленых бактерий, использующих при своем развитии лучистую энергию света. Основным объектом при изучении процесса бактериального фотосинтеза, иначе называемого процессом фоторедукции, служат пурпурные бактерии — наиболее разнообразная и многочисленная группа фотосинтезирующих микроорганизмов. Исследование характера обмена пурпурных бактерий имеет важное значение для выяснения отдельных сторон механизма фотосинтеза, уточнения связи фотосинтеза с другими биохимическими процессами и понимания его эволюции.

Пурпурные бактерии широко распространены в различных водоемах, содержащих заметные количества сероводорода, и при массовом развитии иногда окрашивают воду в розовый цвет (Егунов — 1895; Исаченко — 1914, 1915, 1927, 1937, 1937а; Пельш — 1937а; Кузнецов — 1942, 1952).

На основании физиологических особенностей пурпурные бактерии принято делить на две группы — серные и несерные.

Серные пурпурные бактерии, или Thiorhodoceae, характеризуются как автотрофные облигатно анаэробные организмы, способные окислять сероводород.

К несерным пурпурным бактериям, или Athiorhodaceae, относят гетеротрофные, факультативно анаэробные виды пурпурных бактерий. Хотя эти бактерии и требуют обычно для своего развития органических веществ, но способны переносить высокие концентрации сероводорода, а потому встречаются в тех же местах, где и серные пурпурные бактерии.

Всего в настоящее время описано 13 родов серных пурпурных бактерий и два рода несерных. По форме клеток серные пурпурные бактерии делятся на округлые, палочковидные и извитые. Размеры отдельных видов очень различны и колеблются от 1 до 100 и более микрон. Наряду с подвижными формами среди серных пурпурных бактерий, найдены и неподвижные, причем для многих из неподвижных форм характерно образование слизистых скоплений, так называемых «колоний».

Из большого числа серных пурпурных бактерий наиболее хорошо известны бактерии рода Thiocapsa, Lamprocystis, Thiospirillum и особенно Chromatium.

Несерных пурпурных бактерий описано значительно меньшее число видов. Они объединяются в род Rhodopseudomonas и Rhodospirillum. Бактерии рода Rhodopseudomonas представлены четырьмя видами. Это подвижные, грамотрицательные бесспоровые палочки различной длины. Род Rhodospirillum, к которому относятся извитые формы несерных пурпурных бактерий, включает всего два вида бактерий, из них наиболее хорошо изучен вид Rhodospirillum rubrum.

Следует упомянуть еще об одной, недавно открытой, пурпурной бактерии, названной Rhodomicrobium vannielii (Duchow a. Douglas — 1949; Murray a. Douglas — 1950).

По своим физиологическим особенностям выделенная бактерия оказалась сходной с несерными пурпурными бактериями, но отличается от них по своей морфологии. Клетки ее имеют яйцевидную форму и с помощью особых волоконцев объединяются в отдельные группы. Размножение этой бактерии происходит путем почкования.

Различные виды несерных пурпурных бактерий значительно чаще используются для изучения процесса бактериального фотосинтеза, чем серные пурпурные бактерии, так как их легче выделить в чистых культурах и культивировать в лабораторных условиях.

Морфологическое разнообразие пурпурных бактерий — одна из основных причин,

затрудняющих их систематику. Не всеми авторами признается правильность деления пурпурных бактерий на два семейства — Thio и Athiorhodacea (Molisch — 1907; van Niel — 1944).

Красильников (1949) относит пурпурные бактерии к пяти различным семействам. Chromatiaceae, Rhodocapsaceae, Thiocapsaceae, Spirillaceae, Pseudomonodaceae. При этом семейства Spirillaceae и Pseudomonodaceae, кроме пурпурных бактерий, включают и бесцветные формы других микроорганизмов.

При такой систематике термины Thio и Athiorhodaceae сохраняют свое значение лишь как определяющие физиологические особенности тех или иных видов пурпурных бактерий.

Изучение пурпурных бактерий было начато еще в середине прошлого века, но только после работ Энгельмана (Engelmann — 1883, 1888) и особенно Виноградского (1887, 1888, 1889) физиологические особенности этих бактерий привлекли к себе должное внимание исследователей. К началу XX века сложились три точки зрения на характер обмена у пурпурных бактерий.

Энгельман, впервые установивший способность пурпурных бактерий к фототаксису, считал, что эти микроорганизмы осуществляют процесс фотосинтеза по типу зеленых растений.

С другой стороны, Виноградский своими замечательными опытами показал, что серные пурпурные бактерии, подобно бесцветным серным бактериям, в процессе развития окисляют сероводород до серы и серной кислоты. Это послужило достаточным основанием для причисления пурпурных бактерий к хемоавтотрофным организмам.

Молиш (Molisch — 1907), работая главным образом с несерными пурпурными бактериями, пришел к выводу, что пурпурные бактерии не способны восстанавливать CO_2, а осуществляют своеобразную ассимиляцию органического вещества, стимулируемую светом. Кроме того, им было установлено, что при свободном доступе воздуха некоторые из пурпурных бактерий обладают способностью к развитию в темноте.

Попытка пересмотреть и обобщить все имеющиеся данные по физиологии пурпурных бактерий была сделана впервые Будером (Buder — 1919, 1920), который высказал предположение, что пурпурные бактерии способны использовать два вида энергии — лучистую энергию и энергию, получаемую при окислении сероводорода или органических веществ. Иными словами, Будером признавалась способность пурпурных бактерий к фотосинтезу с образованием кислорода, который используется серными пурпурными бактериями для окисления сероводорода, а несерными — для окисления органических веществ. Гипотеза Будера была полностью принята Бавендаммом (Bavendamm — 1924), который, работая с серными пурпурными бактериями, подтвердил потребность их как в свете, так и в сероводороде.

Однако вскоре гипотеза Будера и Бавендамма подверглась критике со стороны ван Ниля (1931). Ван Ниль, выделив в чистых культурах различные виды серных пурпурных бактерий, провел с ними обширные исследования, в том числе установил количественное соотношение между потребляемой при развитии этих бактерий углекислотой и окисляемым ими сероводородом. В результате проведенных наблюдений он пришел к выводу, что серные пурпурные бактерии осуществляют свое развитие за счет своеобразного процесса фотосинтеза, отличающегося от фотосинтеза у зеленых растений тем, что донатором водорода для восстановления углекислоты у пурпурных бактерий является не вода, а сероводород, почему процесс бактериального фотосинтеза и не сопровождается выделением кислорода. Фотосинтетическая реакция у серных пурпурных бактерий была представлена ван Нилем в виде следующих хорошо известных уравнений:

$$CO_2 + 2H_2S \xrightarrow{\text{свет}} (CH_2O) + H_2O + 2S,$$

или

$$2CO_2 + H_2S + 2H_2O \xrightarrow{\text{свет}} 2(CH_2O) + H_2SO_4.$$

Гипотеза ван Ниля получила широкое признание и была применена самим автором и другими исследователями для объяснения характера обмена у несерных пурпурных бактерий.

Было высказано и в дальнейшем подтверждено предположение, что эти бактерии осуществляют фотовосстановление углекислоты, используя в качестве донаторов водорода органические соединения (Müller — 1933; van Niel — 1936; Foster — 1940).

К моменту появления первых работ ван Ниля и в ближайшие последующие годы были достигнуты также большие успехи в изучении пигментной системы пурпурных бактерий [1]. Установлено, что все пурпурные бактерии, наряду с каротиноидными пигментами, содержат пигмент бактериохлорофилл, сходный по своей структуре с хлорофиллом зеленых растений и выполняющий аналогичную роль в процессе бактериального фотосинтеза (Любименко — 1921; Schneider — 1934; Fischer — 1934, 1937; French — 1937a).

[1] См. Обзорную статью Л. К. Осницкой «Пигментная система пурпурных бактерий». Микробиология, 1950.

За последнее двадцатилетие появилось значительное число работ по изучению отдельных сторон физиологии серных и несерных пурпурных бактерий с применением новейших методов исследования. Выявлен и уточнен ряд весьма важных и интересных моментов в обмене этих микроорганизмов, что способствовало дальнейшей разработке теории бактериального фотосинтеза. Поэтому рассмотрению современных концепций бактериального фотосинтеза следует предпослать ознакомление с основными достижениями в области изучения физиологии пурпурных бактерий в целом.

Физико-химические факторы, влияющие на развитие пурпурных бактерий (свет, температура, rH и pH среды)

Одним из основных условий развития большинства видов пурпурных бактерий является наличие света. Но и на те виды пурпурных бактерий, которые могут расти в темноте, свет оказывает явно стимулирующее действие.

Поскольку развитие пурпурных бактерий на свету неразрывно связано с процессом фотосинтеза, то обычно считают, что оба эти процесса пропорциональны друг другу, и, говоря об условиях, обеспечивающих возможность развития пурпурных бактерий, подразумевают при этом и условия, обеспечивающие возможность фотосинтеза, и наоборот.

Исследование влияния света на развитие пурпурных бактерий облегчается тем обстоятельством, что эти микроорганизмы могут нормально развиваться при искусственном круглосуточном освещении обычными электрическими лампами (Селибер — 1928). Установлено, что при низкой интенсивности света скорость фотосинтеза у пурпурных бактерий прямо пропорциональна снабжению световой энергией (French — 1937; 1937 a; Eymers a. Wassink — 1938).

Еще до получения экспериментальных доказательств наличия у пурпурных бактерий фотосинтетического процесса было известно, что эти бактерии обладают способностью к фототаксису, т. е. движению в направлении к свету.

В настоящее время изучению фототаксической реакции у бактерий придается большое значение в связи с двумя моментами: во-первых, фототаксис рассматривается как частное проявление общего свойства всей живой материи — свойства раздражимости. Предполагают, что исследование его даст возможность уточнить механизм передачи раздражения и в других, более высоко организованных биологических системах (Clayton — 1953). Во-вторых, отмечается непосредственная связь между фототаксисом и фотосинтезом, хотя характер этой связи еще не уточнен.

Мантен и другие исследователи (Manten — 1948, Thomas a. Nijenhuis — 1950) считают, что фототаксис у пурпурных бактерий и, в частности, у Rhodospirillum rubrum, с которой ими проводились опыты, обусловливается внезапным уменьшением скорости процесса фотосинтеза. Клайтон (1953) склонен предполагать, что фототаксис у пурпурных бактерий возникает в результате временного нарушения в цепи реакций, связанных с фотосинтезом. Им было установлено, что соотношение интенсивности светового насыщения для фототаксиса и фотосинтеза не является постоянной величиной, как это считают Томас и Ниженуис (Thomas a. Nijenhuis — 1950), а изменяется в зависимости от того, какое соединение служит донатором водорода при фотосинтезе.

Изучение спектра света, который является активным при фототаксисе, показало, что в этом процессе, наряду с бактериохлорофиллом, принимают участие и каротиноидные пигменты (Manten — 1948; Thomas — 1950; Thomas, Goedheer — 1953; Milatz a. Manten — 1953).

Поскольку фототаксическая реакция связана с фотосинтезом, то полученные данные рассматриваются как доказательство участия в процессе бактериального фотосинтеза не только бактериохлорофилла, но и каротиноидов.

Подтверждением участия в фотосинтезе у пурпурных бактерий каротиноидов служат также опыты Клейтона (1953) с Rhodospirillum rubrum, показавшие, что при анаэробных условиях эта бактерия может развиваться не только при освещении белым светом или частью спектра, поглощаемой бактериохлорофиллом, но и при освещении зелеными лучами света, поглощаемыми каротиноидными пигментами. Клейтоном (1953) было установлено, что в процессе фотосинтеза и фототаксиса у Rhodospirillum rubrum, наряду с другими каротиноидами, принимает участие спириллоксантин, что отрицалось Монтеном (1948).

Но, признавая участие каротиноидных пигментов в фотосинтезе у пурпурных бактерий, никто не отрицает, что основная роль в этом процессе принадлежит бактериохлорофиллу. Клейтоном (1953) высказано предположение, что и та энергия, которая поглощается каротиноидными пигментами, передается от них бактериохлорофиллу, непосредственно участвующему в процессе фотосинтеза.

Как уже отмечалось, бактериохлорофилл по своему строению и спектру поглощения весьма сходен с хлорофиллом зеленых растений (Годнев — 1937; Степаненко — 1947; Шпольский — 1947), с той разницей, однако, что он имеет ярко выраженную полосу поглощения в инфракрасной части спектра. Последним объясняется возможность развития пурпурных бактерий при освещении невидимыми инфракрасными лучами, о чем важно помнить при постановке опытов с этими бактериями в темноте.

Пурпурные бактерии относятся к числу микроорганизмов, способных развиваться в широких пределах колебаний температуры, начиная от температуры, близкой к нулю, и кончая температуроой 50—70° (Исаченко — 1914; Конгиссер — 1931; Гинзбург-Карагичева — 1936). Однако следует отметить, что при очень высоких температурах могут развиваться лишь некоторые адаптированные формы. На развитие же большинства видов пурпурных бактерий повышение температуры за пределы 40—45° отражается неблагоприятно, а пятиминутное нагревание при 60° может привести к гибели клеток. Значительно легче пурпурные бактерии переносят низкие температуры. После замораживания в течение суток оттаявшие клетки их сохраняли способность к движению и развитию.

Гафрон (Gaffron — 1933) установил, что скорость восстановления CO_2 несерной пурпурной бактерией Rhodovibrio parvus (Rhodopseudomonas palustris) при повышении температуры от 25 до 40° возрастает в 5 раз, но для других видов пурпурных бактерий температурный оптимум не так высок и соответствует приблизительно 30° (van Niel — 1941).

Как уже отмечалось, все серные пурпурные бактерии являются строгими анаэробами, а несерные пурпурные бактерии относятся к факультативным анаэробам. Но клетки даже серных пурпурных бактерий могут некоторое время находится на воздухе, оставаясь после этого жизнеспособными (Roelofsen — 1935). Несерные же пурпурные бактерии, как правило, легко адаптируются к аэробным условиям и развиваются в присутствии кислорода воздуха, хотя обычно медленнее, чем при анаэробном культивировании.

У типичного представителя этой группы бактерий, каким является Rhodospirillum rubrum, обнаружен цитохром С, присутствие которого считается характерным для аэробных организмов (Vernon — 1953; Vernon a. Kamen — 1953).

Помимо возможности роста в присутствии кислорода воздуха, несерные пурпурные бактерии обнаруживают также способность использовать молекулярный кислород для окисления органических соединений, что позволяет им развиваться в темноте. Серные же пурпурные бактерии, будучи строгими анаэробами, такого свойства не обнаруживают (van Niel — 1941, 1944).

Исследования Сапожникова (1937а), проведенные с представителем серных пурпурных бактерий Ectothiorhodospira mobile Pelsch, показали, что эта бактерия способна осуществлять заметную фоторедукцию CO_2 и

развиваться только при значениях rH среды — от 14 до 16. Известно также, что для развития серных пурпурных бактерий на средах с гипосульфитом, серой или органическими соединениями требуется добавление небольшого количества сероводорода (van Niel — 1931, 1936), который, очевидно, необходим для снижения окислительно-восстановительного потенциала среды.

Несерные же пурпурные бактерии, как и другие факультативно анаэробные организмы, способны развиваться в более широких пределах изменения окислительно-восстановительных условий среды. Так, Rhodopseudomonas palustris оказалась способной к развитию в пределах изменения rH среды от 26 до 1,8 при оптимуме развития, соответствующем значениям rH 20—1,8 (собственные наблюдения — 1953).

Измеряя Eh суспензии клеток серных пурпурных бактерий в различных условиях культивирования, Роелофсен (Roelofsen — 1935) обнаружил, что окислительно-восстановительный потенциал среды резко повышается при перенесении суспензии этих бактерий из темноты на свет, а затем заметно снижается, если в среде имеется окисляемое соединение.

Повышение окислительно-восстановительного потенциала среды при переносе суспензии клеток Chromatium на свет обнаружил и Вассинк (Wassink — 1947), причем изменение rH среды было наибольшим в отсутствие молекулярного водорода и наименьшее при отсутствии в среде CO_2.

Все эти, хотя и немногочисленные, данные свидетельствуют о том, что изменения окислительно-восстановительного потенциала среды у пурпурных бактерий имеют непосредственную связь с процессом фотосинтеза.

Большинство серных пурпурных бактерий хорошо растет в пределах изменения pH от 8 до 9, а несерные пурпурные бактерии — при значениях pH 7—8. Вместе с тем для отдельных видов пурпурных бактерий зоны значений pH, при которых наблюдается их развитие, могут значительно различаться между собой и, кроме того, меняться в зависимости от состава среды.

Смещение зоны развития пурпурных бактерий в щелочную сторону при увеличении в среде концентрации сероводорода или органических кислот ван Ниль (1931, 1936) объяснял тем, что при более щелочном pH эти соединения диссоциируют в большей степени и в таком виде перестают быть ядовитыми для бактерий.

Несколько иначе рассматривается этот вопрос Чесноковым и Сапожниковым (1936, 1936а), которые считают, что изменение зоны pH, при котором развиваются пурпурные бактерии, связано со степенью окисленности добавленного к среде окисляемого соединения и тем окислительно-восстановительным потенциалом (Eh), который при этом создается в среде. Изменение зоны pH, при котором растут бактерии, по их мнению, всегда направлено в сторону поддержания неизменным, значения rH среды.

Потребность пурпурных бактерий в минеральных соединениях, источниках азота и витаминах

Обязательными компонентами сред, на которых развиваются пурпурные бактерии, помимо углекислоты и органического или неорганического окисляемого соединения, используемого в процессе фотосинтеза, являются соединения азота, фосфора и ряда других элементов. Несерные пурпурные бактерии проявляют также потребность в витаминах. Фосфор чаще всего вносится в среду в форме K_2HPO_4. Количество фофсора, при котором наблюдается нормальное развитие пурпурных бактерий, обычно незначительно. Для Rhodospirillum rubrum оно не превышает 2—4 мг на литр среды (Gest a. Kamen — 1949a).

Данные, полученные за последнее время, указывают на возможность образования в процессе фотосинтеза фосфорилированных, богатых энергией, органических соединений, как это имеет место при других биохимических реакциях. Такое предположение основывается отчасти на том, что поглощение и оборот фосфора у пурпурных бактерий значительно больше на свету, чем в темноте (Gest, Kamen — 1948).

Установлено также, что перенесение суспензий клеток Chromatium со света в темноту сопровождается выделением в среду неорганического фосфата (Wassink, Tjia, Wintermans — 1949).

Кроме солей фосфора, для развития пурпурных бактерий необходимо наличие сернокислых или хлористых солей магния. Для видов, выделенных из соленых водоемов, требуется также добавление к среде хлористого натрия.

В природе некоторые адаптированные формы пурпурных бактерий встречаются в условиях большой засоленности — при концентрации рапы в 28—31° Боме. Следует отметить, что и некоторые пресноводные формы пурпурных бактерий легко приспособляются к развитию на средах, содержащих до 10—15% хлористого натрия. Но, как правило, даже формы, растущие в условиях большой засоленности, лучше развиваются при концентрации NaCl 3—10% (Надсон — 1903, 1912; Исаченко — 1927, 1927а, 1937).

Еще Виноградским (1888) было отмечено, что положительное влияние на развитие пурпурных бактерий оказывает добавление к среде солей железа и марганца. Но потребность пурпурных бактерий в этих элементах, очевидно, столь незначительна, что часто удовлетворяется за счет примеси их к другим солям.

Хетнером (Hutner — 1944, 1946) было установлено, что несерные пурпурные бактерии для своего оптимального развития требуют добавления к среде таких элементов, как Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, Ca, B, J, в количестве всего от 0,1 до 10 γ на литр среды. Некоторые виды несерных пурпурных бактерий, в частности — отдельные штаммы Rhodospirillum rubrum, оказались особенно требовательными к наличию в среде кальция, который вносится в среду в форме $CaCl_2$. В отсутствие кальция культура этих бактерий подвергалась агглютинации (Foster — 1944; Hutner — 1946). При отсутствии в среде Mn значительно снижается образование Rhodopseudomonas spheroides порфирина и бактериохлорофилла, тогда как синтез каротиноидов остается без изменения (Lascelles — 1953).

В качестве источников азота пурпурные бактерии могут использовать различные органические и неорганические соединения. Наиболее часто в лабораторных условиях применяются соли аммония. Но развитие пурпурных бактерий наблюдается и на средах, содержащих в качестве источников азота пептон, дрожжевой автолизат или аминокислоты (Gest — 1951).

Большой интерес представило открытие способности пурпурных бактерий к фиксации азота атмосферы, что было обнаружено впервые Каменом и Гестом (Gest a. Kamen — 1949) при постановке опытов с несерной пурпурной бактерией Rhodospirillum rubrum. Поводом для проверки способности к фиксации азота этой бактерией послужило открытие у нее фермента гидрогеназы, с наличием которого ряд авторов связывает способность к фиксации азота у различных организмов (Wilson, Burris — 1947; Gest, Kamen — 1949) [2].

Вскоре было установлено, что и другие виды как серных, так и несерных пурпурных бактерий могут использовать молекулярный азот (Lindstrom, Burris, Wilson — 1949; Lindstrom, Tove, Wilson — 1950; Lindstrom, Lewis, Pinsky — 1951). Фиксация азота у пурпурных бактерий легко обнаруживается при применении меченых атомов азота, а также методом микро-кьельдаля. Интересен тот факт, что азотофиксация у пурпурных бактерий связана каким-то образом с процессом фотосинтеза, поскольку значительное количество азота фиксируется этими бактериями только на свету и преимущественно в анаэробных условиях (Gest, Kamen — 1949а; Gest, Kamen, Bregoff — 1950; Lindstrom, Wilson — 1951; Lindstrom, Newton, Wilson — 1952; Newton, Wilson — 1953).

Азотофиксация у пурпурных бактерий, так же как и у азотобактера, тормозится при наличии в среде солей аммония (Gest a. Kamen — 1949а).

[2] Однако Lindstrom, Lewis, Pinsky (1951), проводившие опыты с E. coli, показали, что хотя эта бактерия и содержит активную гидрогеназу, но азотофиксирующей способности не обнаруживает.

Предполагают, что именно аммоний является промежуточным соединением, образующимся при фиксации азота фотосинтезирующими бактериями (Wall, Wagenknecht, Newton, Burris — 1952). Распределение меченых атомов азота (N^{15}) в аминокислотах у Chromatium и Rhodospirillum rubrum оказалось таким же, как и у азотобактера (Wagenknecht a. Burris — 1950). Эти данные рассматриваются указанными авторами, как доказательство сходства механизма фиксации азота у пурпурных бактерий с механизмом фиксации его азотобактером. С другой стороны, связь азотофиксирующей способности пурпурных бактерий с процессом фотосинтеза, возможно, служит подтверждением имеющегося предположения (Федоров — 1948), что восстановление молекулярного азота микроорганизмами, подобно восстановлению углекислоты при фотосинтезе, осуществляется за счет водорода воды.

Отличительной особенностью несерных пурпурных бактерий от серных считается их потребность в витаминах при развитии на средах с простыми органическими соединениями (van Niel — 1944; Foster — 1951). Хетнером (1944, 1946, 1950) установлено, что каждый из видов несерных пурпурных бактерий требует для своего развития как на свету, так и в темноте, в аэробных или анаэробных условиях определенных витаминов. Так, Rhodospirillum rubrum нуждается в биотине, Rhodopseudomonas palustris — в р-аминобензойной кислоте, Rhodopseudomonas capsulatus — в тиамине, Rhodopseudomonas gelatinosa — в тиамине и биотине и, наконец, Rhodopseudomonas spheroides — в тиамине, биотине и никотиновой кислоте.

Следует однако, отметить, что выделенная нами пурпурная бактерия, которая по морфологическим и основным физиологическим признакам оказалась сходной с Rhodopseudomonas palustris, не требовала для своего развития витаминов даже при росте на простых минеральных средах. Недавно открытая бактерия Rhodomicrobium vannielii, условно причисляемая к группе несерных пурпурных бактерий, также не нуждается для своего развития в витаминах, будучи сходна в этом отношении с серными пурпурными бактериями.

Использование пурпурными бактериями сероводорода и других неорганических окисляемых соединений в процессе фотосинтеза

К развитию на минеральных средах с источником углерода в виде углекислоты способны все виды серных пурпурных бактерий и отдельные виды несерных. Обычно углекислота вносится в среду в виде бикарбоната в количестве 0,2—0,5%.

Как было установлено ван Нилем (1931), фотовосстановление углекислоты серными пурпурными бактериями непосредственно связано с окислением сероводорода, который выполняет в этом процессе роль восстановителя, или, по выражению ван Ниля, «донатора водорода». Развитие пурпурных бактерий на средах с сероводородом происходит только на свету в анаэробных условиях. При этом между количеством восстановленной бактериями CO_2, окисленным сероводородом и образующимся сульфатом существует следующее соотношение:

$$2CO_2 + H_2S + 2H_2O \xrightarrow{\text{свет}} 2(CH_2O) + H_2SO_4.$$

В лабораторных условиях большинство видов пурпурных бактерий хорошо развивается при содержании в среде 0,1—0,2% сернистого натрия. Долгое время отличительным свойством всех серных пурпурных бактерий считалась их способность при неполном окислении сероводорода откладывать в клетках капельки серы. Однако в настоящее время установлено, что наиболее мелкие формы серных пурпурных бактерий не способны к внутриклеточному отложению серы, последняя растворяется в избытке сульфида в среде с образованием полисульфидов. При этом среда окрашивается в желтый цвет (van Niel — 1931; Пельш — 1937). Сера, как показал еще Виноградский (1887), является первым продуктом окисления сероводорода. После того как бактерии используют имеющийся сероводород, начинается окисление серы, которая превращается ими в конечном счете в серную кислоту.

Весь процесс окисления сероводорода до серной кислоты представляется в следующем виде (van Niel — 1931):

$$H_2S \rightarrow S \rightarrow SO \rightarrow SO_2 \rightarrow SO_3 \rightarrow SO_4.$$

Подтверждением этому служит способность пурпурных бактерий развиваться и осуществлять фотовосстановление углекислоты не только на средах с сероводородом, но и на средах, содержащих молекулярную серу, сульфит или гипосульфит. Окисление указанных соединений соответствует приблизительно следующим уравнениям (van Niel — 1931):

$$1{,}5CO_2 + 4H_2O + S \xrightarrow{\text{свет}} 1{,}5\,(CH_2O) + 1{,}5H_2O + H_2SO_4;$$

$$CO_2 + 2H_2O + 2H_2SO_3 \xrightarrow{\text{свет}} (CH_2O) + H_2O + 2H_2SO_4;$$

$$2CO_2 + 5H_2O + Na_2S_2O_3 \xrightarrow{\text{свет}} 2(CH_2O) + 2H_2O + 2NaHSO_4.$$

Серные пурпурные бактерии обнаруживали также способность к использованию в процессе фотосинтеза и других неорганических соединений. Так, Сапожниковым (1937) было установлено, что серная пурпурная бактерия Ectothiorhodospira mobile может развиваться на среде, содержащей металлический селен, который на свету окисляется ею до селеновой кислоты:

$$1{,}5CO_2 + 4H_2O + Se \xrightarrow{\text{свет}} 1{,}5\,(CH_2O) + 1{,}5H_2O + H_2SeO_4.$$

Несерные пурупурные бактерии, как правило, растут на средах, содержащих органические соединения. Однако отдельные представители этих бактерий, в частности Rhodopseudomonas palustris, оказались способными окислять при своем развитии на свету неорганические соединения серы и, в первую очередь, гипосульфит (Nakamura — 1937a; van Niel — 1944).

Факт использования несерными пурпурными бактериями для фотовосстановления CO_2 неорганических соединений серы весьма интересен, так как он указывает на сходство в характере обмена серных и несерных пурпурных бактерий. С этой точки зрения важно также установление способности представителей серных и несерных бактерий осуществлять процесс фотосинтеза, используя в качестве восстановителя углекислоты молекулярный водород (Roelofsen — 1935, Gaffron — 1935; French — 1937; van Niel — 1941). При этом окисление водорода может быть выражено уравнением, которое вполне соответствует общему уравнению фотосинтеза:

$$CO_2 + 2H_2 \xrightarrow{\text{свет}} (CH_2O) + H_2O$$

Использование пурпурными бактериями органических соединений углерода в присутствии света

Все пурпурные бактерии хорошо развиваются на средах, содержащих различные органические соединения. Лучшими субстратами для культивирования большинства видов серных и несерных пурпурных бактерий являются среды, содержащие соли таких органических кислот, как, например, янтарная, фумаровая, яблочная, уксусная и др. Кроме того, некоторые штаммы пурпурных бактерий оказались способными использовать пептон, дрожжевой автолизат, отдельные сахара, спирты, кетоны, оказывать воздействие на жиры и развиваться на нефти (Селибер — 1924; Исаченко — 1939; van Niel — 1931, 1936, 1944; Müller — 1933; Nakamura — 1937; Czurda u. Maresch — 1937; Foster — 1940, 1944; Sigel 1950).

Хотя Гаффрон (1935) высказал предположение, что серные пурпурные бактерии, в отличие от несерных, используют органические соединения только для восстановле-

ния находящихся в среде сульфатов до сульфидов, необходимых им для осуществления процесса фотосинтеза, но этот взгляд не подтверждается данными других исследователей. Еще Виноградский (1889) отмечал неспособность серных бактерий в обычных условиях культивирования восстанавливать сульфаты, что было подтверждено Роелофсеном (1935). Ван Ниль (1936), проверявший результаты опытов Гаффрона, пришел к выводу о том, что нет оснований противопоставлять серных и несерных пурпурных бактерий по характеру использования ими органических соединений. Все последующие наблюдения также свидетельствуют о том, что серные пурпурные бактерии, подобно несерным, используют органические соединения непосредственно для своего развития.

Поскольку развитие пурпурных бактерий на средах с органическими веществами происходит в анаэробных условиях, то очевидно, что использование ими органических веществ не связано с наличием молекулярного кислорода. С другой стороны, разложение органических веществ пурпурными бактериями не идет по типу брожения, так как в среде обычно не происходит накопления тех не полностью окисленных продуктов, которые характеризуют процесс брожения (Muller — 1933). Вместе с тем легко установить связь между использованием пурпурными бактериями органических веществ при анаэробных условиях культивирования и наличием света.

Последние наблюдения дали основание предположить (Muller — 1933; van Niel — 1936), что обе группы пурпурных бактерий при своем развитии на средах с органическими соединениями используют последние в качестве восстановителей («донаторов водорода») для фотосинтетического восстановления углекислоты, как это имеет место при их развитии на средах с неорганическими «донаторами водорода». Однако подтвердить это точным экспериментальными данными оказалось довольно сложным.

Вопрос сводился к следующему: используют ли пурпурные бактерии при своем развитии на свету непосредственно углерод из органических соединений, или органические вещества требуются им лишь для возможности фотовосстановления углекислоты, или, наконец, пурпурные бактерии одновременно осуществляют фотовосстановление углекислоты и используют углерод из органических соединений.

Обнаружение способности пурпурных бактерий к восстановлению углекислоты в присутствии многих органических соединений затрудняется тем обстоятельством, что обычно разложение ими органических веществ само сопровождается выделением в среду углекислоты. Поэтому не всегда бывает возможным точно определить, какое количество ее потреблено бактериями. Так, Мюллер (1933), изучавший развитие серных пурпурных бактерий на средах с различными органическими кислотами (уксусной, пропионовой, масляной, янтарной, молочной, пировиноградной), наблюдал уменьшение количества углекислоты в среде только при развитии пурпурных бактерий на среде с масляной кислотой.

Считая, как и ван Ниль, что органические соединения в процессе развития пурпурных бактерий служат в первую очередь «донаторами водорода», Мюллер объясняет это явление следующим образом: по его мнению, выделение или поглощение CO_2 из среды связано со степенью окисленности имеющегося органического соединения. Соединения, более окисленные, чем предполагаемый клеточный материал (степень окисления которого примерно соответствует CH_2O), содержат недостаточно водорода для фотовосстановления всей углекислоты, образующейся при их разложении. Соединения, более восстановленные, чем клеточный материал, например, масляная кислота, дают при своей дегидрогенизации более чем достаточно водорода для восстановления всей образующейся углекислоты, в результате чего происходит поглощение и части той углекислоты, которая добавляется к среде.

Следует заметить, однако, что практически добавление к среде углекислоты оказывается необходимым не только при развитии пурпурных бак-

терий на среде с масляной кислотой, но и на средах с органическими соединениями, более окисленными, чем клеточный материал.

Потребление углекислоты несерными пурпурными бактериями было установлено Гаффроном (1933), показавшим, что суспензии клеток этих бактерий поглощают углекислоту только при добавлении к ним солей органических кислот и при наличии света. Потребление углекислоты увеличивалось с увеличением длины углеродной цепочки добавленной кислоты, так что на каждую группу CH_2 кислоты использовалось около 0,4 моля CO_2. Такая закономерность соблюдалась примерно до добавления кислоты с количеством атомов углерода не более 9.

Использование несерными пурпурными бактериями углерода из углекислоты при развитии на средах с органическими соединениями подтверждается в настоящее время исследованиями, проведенными с применением меченого бикарбоната (van Niel — 1949; Tarver, Tabachnik, Canellakis — 1952).

Но все эти данные лишь косвенно раскрывают роль органических соединений в процессе бактериального фотосинтеза. Поэтому большой интерес представили работы Фостера (1940, 1944), выделившего штамм несерных пурпурных бактерий, который в присутствии света окислял изопропанол с образованием ацетона согласно следующему уравнению.

$$2CH_3CHOHCH_3 + CO_2 \xrightarrow{\text{свет}} (CH_2O) + 2CH_3COCH_3 + H_2O.$$

Тем самым Фостером было доказано, что органическое соединение (изопропанол) претерпевает простую дегидрогенизацию без изменения своего углеродного скелета и в процессе бактериального фотосинтеза служит только восстановителем. Результаты опытов Фостера были позднее подтверждены Зигелем и Каменом (1950).

Но можно ли отсюда сделать вывод, что все органические соединения, на которых развиваются пурпурные бактерии, выполняют роль только восстановителей? Имеющиеся в этом отношении данные, многие из которых получены за последнее время, свидетельствуют о том, что в большинстве случаев органические соединения при развитии пурпурных бактерий в присутствии света служат для них не только «донаторами водорода», но и непосредственными источниками углерода для построения клеточного материала.

Те же исследования Мюллера (1933) с серными пурпурными бактериями показывают, что эти бактерии при своем развитии на средах с различными органическими кислотами почти полностью превращают их в клеточное вещество. Отсюда можно предположить, что бактерии частично используют непосредственно углерод из каких-то продуктов неполного окисления органических веществ, а не только углерод из углекислоты, образующийся при их полном разложении.

Из выделенных Фостером (1944) штаммов несерных пурпурных бактерий многие обнаружили способность окислять в присутствии света ряд первичных спиртов. Однако при этом в среде не обнаруживались соответствующие кислоты, как можно было бы ожидать, считая, что первичные спирты играют роль только восстановителей.

Наглядным доказательством использования пурпурными бактериями углерода из органических соединений являются также результаты опытов Зигеля (Siegel, Kamen — 1950; Siegel 1950) с несерной пурпурной бактерией Rhodopseudomonas gelatinosa. Бактерия эта использовала при своем развитии на свету ацетон, количественно превращая его в клеточный материал.

Кроме ацетона, эта же бактерия легко использовала изопропиловый спирт, ацетоуксусную и уксусную кислоту. На основании проведенных опытов Зигель высказал предположение, что превращение изопропилового спирта в клеточный материал у пурпурных бактерий происходит согласно следующей схеме:

изопропиловый спирт → ацетон (+CO_2) → ацетоуксусная кислота → уксусная кислота → клеточный материал.

Важное значение уксусной кислоты при синтезе клеточного материала пурпурных бактерий подтверждается в последнее время результатами опытов с применением меченых атомов углерода, которые проводились с несерной пурпурной бактерией Rhodospirillum rubrum на среде с меченым ацетатом или бикарбонатом (van Niel — 1949; Cutinelli, Ehrensvaerd, Reio — 1950; Kamen, Ajl, Ranson, Siegel — 1951; Glover, Kamen — 1951).

Каменом и другими авторами (Kamen, Ajl, Ranson, Siegel — 1951) было установлено; что на свету в клеточный материал данной бактерии в основном переходит углерод из метильной группы ацетата, тогда как карбоксильная группа ацетата в большей степени превращается в углекислоту. Определение содержания меченого углерода в белках и пигментах Rhodospirillum rubrum, выросшей на среде с меченым ацетатом или бикарбонатом, показало, что 45% всего углерода в этих соединениях получается из метильной группы ацетата, 23% — из его карбоксильной группы и только 10% — из бикарбоната (Cutinelli, Ehrensvaerd, Reio — 1950).

В отдельных аминокислотах меченый углерод из карбоксильной группы ацетата был обнаружен как α-углеродный атом глицина, серина, аланина, треонина и аспарагиновой кислоты; β-углерод всех указанных кислот, за исключением глицина, происходил из метильной группы ацетата, а γ-углерод треонина получался в основном из бикарбоната (Cutinelli, Ehrensvaerd, Saluste Stjernholm — 1951; Cutinelli, Ehrensvaerd, Hogstrom — 1952).

В тирозине был обнаружен как углерод из углекислоты, так и углерод из карбоксильной и метильной групп ацетата (Ehrensvaerd, Reio — 1953).

Но использование углерода из органических соединений для синтеза клеточного материала пурпурными бактериями не всегда так велико, как на среде с ацетатом, а зависит, очевидно, от субстрата, на котором они развиваются. Так, при развитии Rhodospirillum rubrum в анаэробных условиях на среде с этиловым спиртом и меченым бикарбонатом 40% всего углерода, обнаруженного в аминокислотах, исходило из бикарбоната (Tarver, Tabachnik, Canellakis — 1952).

Результаты приведенных опытов свидетельствуют о том, что в большинстве случаев пурпурные бактерии почти полностью используют органические соединения, особенно органические кислоты, для построения клеточного материала. При этом в среде можно часто наблюдать накопление в заметных количествах или одной углекислоты (Muller — 1933; Gaffron — 1934), или углекислоты и водорода.

Впервые выделение водорода пурпурными бактериями в присутствии света наблюдал Накамура (1937b) при добавлении к суспензии клеток Rhodopseudomonas palustris муравьиной кислоты или глюкозы. Однако образование водорода пурпурными бактериями на указанных субстратах имело место не только на свету, но и в темноте, причем в последнем случае было значительно больше.

Иные результаты были получены за последнее время Гестом и рядом других авторов (Gest, Kamen — 1949, 1949a; Gest, Kamen, Bregoff — 1950; Bregoff, Kamen — 1952, 1952a), которыми установлено, что суспензия клеток как серных, так и несерных пурпурных бактерий, а также растущие культуры этих микроорганизмов в определенных условиях культивирования могут образовывать водород только в присутствии света.

Фотообразование водорода несерной пурпурной бактерией Rhodospirillum rubrum наблюдалось при развитии ее на средах, содержащих яблочную, фумаровую, янтарную, щавелевоуксусную или пировиноградную кислоту, при условии, если источниками азота являлись такие аминокислоты, как глютаминовая или аспарагиновая. Если же к среде добавлялся пептон, большие количества дрожжевого автолизата или бактерии помещались в атмосферу азота, то выделение водорода прекращалось.

Изучая условия, необходимые для образования водорода двумя видами несерных пурпурных бактерий, Зигель и Камен (1951) пришли к выводу, что выделение водорода в присутствии света может происходить при развитии пурпурных бактерий на всех органических субстратах, которые ими легко используются. Этими авторами было отмечено, что важное значение для фотообразования водорода может иметь концентрация в среде углекислоты. Необходимость углекислоты для фотообразования водорода серными пурпурными бактериями подчеркивалась Ньютоном и Вильсоном (1953).

Механизм фотообразования водорода пурпурными бактериями остается неясным. На основании теоретических соображений Гест и Камен (Gest, Kamen, Bregoff — 1950; Kamen — 1950; Gest — 1951, 1954) указывают, что выделение водорода происходит в тех случаях, когда пурпурные бактерии строят клеточный материал из готовых органических веществ и не используют в этом процессе всего водорода, образующегося при расщеплении воды. При этом непосредственное выделение водорода из какого-то органического акцептора, который образуется только в присутствии света, не связано с наличием лучистой энергии, а осуществляется с помощью фермента гидрогеназы, остающегося активным и в темноте (Gest — 1952, 1954).

Ньютоном и Вильсоном (1953) высказано предположение, что органическим соединением, которое вовлекается в процесс образования водорода пурпурными бактериями, является α-кетоглутарат или близкое ему 5-углеродное соединение. По их мнению, отсутствие выделения водорода пурпурными бактериями при наличии в среде аммония объясняется тем, что в этих случаях α-кетоглутарат полностью используется бактериями для синтеза аминокислот.

Влияние восстановительного аминирования кетокислот на образование водорода пурпурными бактериями отмечалось ранее и Гестом (1951).

Процессы обмена у пурпурных бактерий в темноте

Пурпурные бактерии могут длительное время находиться в темноте, оставаясь при этом жизнеспособными. Более того, многие виды несерных пурпурных бактерий, а также серные пурпурные бактерии, выделенные из нефтеносных пластовых вод, оказались способными расти в темноте (Володин — 1935; Мальшек, Мальянц, Рейнфельд — 1935; Исаченко — 1939, 1940, 1943, 1946, 1948).

Крисс и Рукина (1953) обнаружили своеобразные формы пурпурных бактерий в сероводородной области Черного моря на большой глубине, где нет света. Они считают, что в природных условиях эти бактерии осуществляют востановление CO_2 за счет энергии радиоактивного распада.

Однако до сих пор нет данных о том, что в лабораторных условиях чистые культуры как серных, так и несерных пурпурных бактерий росли в темноте при анаэробных условиях за исключением бактерий из нефтеносных вод (Осницкая, 1954).

Ван Нилем (1931) и Рослофсеном (1935) было высказно предположение, что в анаэробных условиях в темноте пурпурные бактерии остаются жизнеспособными за счет процессов аутоферментации каких-то клеточных материалов. Еще раньше Гаффроном (1934) было обнаружено, что суспензии клеток серных пурпурных бактерий в анаэробных условиях в темноте образуют кислые и газообразные продукты, последние были определены Роелофсеном как CO_2 и H_2. Им было установлено также, что газовыделение не увеличивается при добавлении к суспензии клеток пурпурных бактерий окисляемых соединений.

В отличие от Роелофсена, Накамура (1937b, 1939, 1941) обнаружил, что суспензии клеток серных и несерных пурпурных бактерий способны в темноте, в отсутствие кислорода, разлагать такие органические соедине-

ния, как муравьиная кислота, пировиноградная кислота, глицерин, глицерофосфат и другие вещества, с образованием CO_2 и H_2, причем клетки находились в атмосфере азота.

Установлена также способность пурпурных бактерий в отсутствие света использовать молекулярный водород для восстановления нитратов, окисленных соединений серы, K_3FeCN_6, метиленовой сини и таких органических веществ, как фумаровая, яблочная кислота, глицериновый альдегид и т. д. (Nakamura — 1937, 1938, 1939; Gest — 1950, 1951a).

С другой стороны, отмечается способность пурпурных бактерий окислять в темноте различные органические соединения, используя в качестве акцептора водорода метиленовую синь, KNO_3; K_3FeCN_6 (Nakamura — 1937, 1937b, 1941; Gaffron — 1933; van Niel — 1949).

Кольмиллер и Гест (Kohlmiller a. Gest — 1951) сообщили об анаэробном разложении в темноте суспензиями клеток Rhodospirillum rubrum пировиноградной кислоты с образованием пропионовой, уксусной кислоты и CO_2.

В условиях доступа воздуха даже строго анаэробные серные пурпурные бактерии обнаруживают способность к поглощению в темноте кислорода. Поглощение кислорода суспензиями клеток серных и несерных пурпурных бактерий увеличивается при добавлении к ним ацетата или других органических веществ, легко используемых этими бактериями в присутствии света (Gaffron — 1933; Roelofsen — 1935; Nakamura — 1937, 1939).

Кроме того, уже давно известно, что многие представители несерных пурпурных бактерий способны расти в темноте, окисляя органические соединения кислородом воздуха (Molisch — 1907; van Niel — 1941, 1944).

Очевидно и в темноте и при освещении разложение органических соединений пурпурными бактериями начинается с процесса дегидрогенизации. По данным Дюизенса (Duysens — 1954), этот процесс у Rhodospirillum rubrum происходит при участии цитохрома С. При наличии света водород от органических соединений используется в конечном счете для фотовосстановления углекислоты, в темноте же акцептором водорода является молекулярный кислород.

Таким образом, у пурпурных бактерий, в отличие от зеленых растений, процесс фотосинтеза и процесс «дыхания» связаны с окислением одних и тех же соединений. Поэтому «дыхание» пурпурных бактерий значительно подавляется при перенесении культуры бактерий из темноты на свет в результате начала фотосинтеза (van Niel — 1941).

В качестве примера разложения пурпурными бактериями органического соединения в присутствии и при отсутствии света можно привести схему разложения ацетата (van Niel — 1941):

$$C_2H_3O_2Na + H_2O + CO_2 \xrightarrow{\text{свет}} 2(CH_2O) + NaHCO_3;$$

$$C_2H_3O_2Na + O_2 \xrightarrow{\text{темнота}} (CH_2O) + NaHCO_3.$$

В темноте для построения клеточного материала пурпурные бактерии используют готовые органические вещества. Как было показано выше, аналогичный процесс, по всей вероятности, имеет место и при развитии пурпурных бактерий на средах с органическими соединениями на свету.

Возникает вопрос,— насколько различаются между собой процессы обмена пурпурных бактерий на свету и в темноте.

Гест (1951) считает, что под действием света могут происходить значительные изменения в конечных процессах превращения органических соединений углерода в клеточный материал по сравнению с аналогичными процессами в темноте. Одним из доказательств этого, по его мнению, является тот факт, что в присутствии света несерная пурпурная бактерия Rhodospirillum rubrum для построения клеточного материала в основном использует углерод из метильной группы ацетата, что было установлено

с помощью меченых атомов углерода Каменом и Айлом (Kamen, Ajl, Ranson *et al.*— 1951). При помещении же бактерий в темноту в их клеточном материале было обнаружено почти одинаковое количество углерода из метильной и карбоксильной группы ацетата.

Ван Ниль и ряд других авторов (van Niel — 1949; Foster — 1951; Cutinelli, Ehrensvaerd, Hogstrom — 1952) придерживаются той точки зрения, что процессы обмена у пурпурных бактерий на средах с органическими соединениями на свету и в темноте весьма сходны между собой. Разница заключается лишь в том, что в присутствии света, наряду с использованием бактериями углерода из органических веществ, ими осуществляется процесс фотовосстановления углекислоты. Кутинелли (1952) высказывает предположение, что при развитии пурпурных бактерий на среде с ацетатом в присутствии света происходит присоединение CO_2 к уксусной кислоте с образованием пировиноградной кислоты. Дальнейшее присоединение CO_2 к пировиноградной кислоте приводит к образованию щавелево-уксусной кислоты, и, наконец, может происходить конденсация щавелево-уксусной и уксусной кислот. Образование же аминокислот при анаэробных условиях культивирования пурпурных бактерий на свету происходит таким же путем, как при аэробных условиях в темноте. Значение пировиноградной кислоты как одного из основных соединений при синтезе клеточного материала пурпурными бактериями отмечалось Мюллером (1933) и Фостером (1951).

Не исключена возможность, что и в темноте пурпурные бактерии в какой-то степени используют углекислоту. Ван Нилем (1949) было установлено, что окисление пурпурными бактериями ацетата при отсутствии света возможно только при добавлении к среде углекислоты или небольших количеств таких кислот, как янтарная, фумаровая, яблочная или щавелево-уксусная. С помощью меченых атомов углерода ван Ниль обнаружил также, что в темноте пурпурные бактерии способны фиксировать CO_2 в янтарной кислоте и что окисление ими в темноте ацетата с меченым углеродом в присутствии немеченной янтарной кислоты приводит к образованию меченой янтарной кислоты.

Полученные данные рассматривались ван Нилем как доказательство того, что окисление пурпурными бактериями ацетата связано с циклом трикарбоновых кислот Кребса, хотя им было отмечено, что исследуемая пурпурная бактерия Rhodospirillum rubrum не могла окислять ряд кислот, входящих в указанный цикл.

В настоящее время высказанное ван Нилем предположение о существовании у пурпурных бактерий цикла трикарбоновых кислот подтверждается результатами опытов Эйзенберга (Eisenberg — 1953), который установил, что препараты сухих клеток и бесклеточные экстракты из Rhodospirillum rubrum способны вызывать окисление всех кислот, входящих в цикл Кребса, и в том числе лимонной, изолимонной и α-кетоглютаровой, которые не окислялись живыми клетками. Отсюда Эйзенберг заключил, что неспособность живых клеток окислять указанные кислоты связана у них не с отсутствием соответствующих ферментов, а с непроницаемостью для этих соединений клеточной оболочки. Кроме того, Эйзенбергом было установлено, что под действием ферментативных препаратов, полученных из Rhodospirillum rubrum, может происходить образование лимонной кислоты из щавелево-уксусной и уксусной или пировиноградной кислот.

Механизм бактериального фотосинтеза в сравнении с фотосинтезом у зеленых растений

Имеющиеся данные по физиологии пурпурных бактерий позволили сделать вывод, что бактериальный фотосинтез, подобно фотосинтезу у зеленых растений, представляет собой окислительно-восстановительный

процесс, состоящий из фотохимической реакции, в которой участвует поглощающая свет пигментная система, и ряда ферментативных реакций, происходящих в темноте (Nakamura — 1937; van Niel — 1941, 1944, 1953; Красновский — 1946; Foster — 1951; Стефенсон — 1951; Рабинович — 1951).

В общей форме уравнение для всех фотосинтезирующих организмов было представлено ван Нилем (1941) в следующем виде:

$$CO_2 + 2H_2A \xrightarrow[\text{пигмент}]{\text{свет}} (CH_2O) + H_2O + 2A.$$

Сущность фотосинтеза заключается в восстановлении углекислоты с одновременным окислением тех соединений (H_2A), которые служат донаторами водорода.

В настоящее время признается, что донатором водорода при фотосинтезе у зеленых растений является вода, для расщепления которой и требуется поглощение лучистой энергии. Разложение воды сопровождается образованием, с одной стороны, водорода, идущего на восстановление углекислоты, а с другой стороны,— выделением в среду кислорода:

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{свет}} (CH_2O) + O_2.$$

Как известно, фотосинтез у пурпурных бактерий связан с присутствием в среде сероводорода или других окисляемых соединений, называемых «донаторами водорода».

Если проводить полную аналогию между ролью воды в фотосинтезе у растений и ролью иных донаторов водорода в бактериальном фотосинтезе, то можно было бы сделать вывод, что лучистая энергия требуется пурпурным бактериям для дегидрогенизации органических или неорганических окисляемых соединений. Хорошо, однако, известно, что и бесцветные и некоторые пурпурные бактерии способны окислять такие соединения, как сероводород, тиосульфат, органические кислоты и другие вещества в отсутствие света (Foster — 1951).

С другой стороны, мало вероятно, что лучистая энергия требуется пурпурным бактериям для восстановления углекислоты, так как способностью к восстановлению углекислоты в темноте обладают и хемоавтотрофные и гетеротрофные организмы (Лебедев — 1921; Аристовская — 1941, 1944; Шапошников — 1952; Frank, Gaffron — 1941; Foster — 1951).

Поэтому признается наиболее возможным, что фотохимическая реакция у пурпурных бактерий, так же как и у зеленых растений, связана с расщеплением воды (Nakamura — 1937, van Niel — 1941; Foster — 1951).

Согласно схеме бактериального фотосинтеза, разработанной ван Нилем (1953) и приводимой ниже, ответить на эти вопросы можно следующим образом (см. схему).

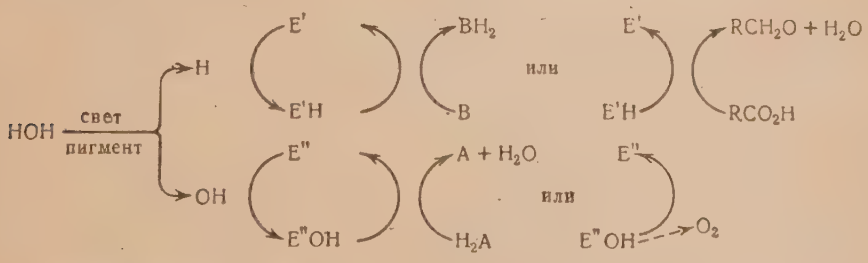

Схема процесса фотосинтеза (по ван Нилю, 1953)

Но если световая реакция у тех и других организмов одинакова, то возникает вопрос,— почему при бактериальном фотосинтезе не наблю-

дается выделения кислорода и какую роль в этом процессе выполняют те окисляемые соединения, без которых невозможно развитие пурпурных бактерий.

Первичная фотохимическая реакция как растительного, так и бактериального фотосинтеза заключается в расщеплении воды на свободные радикалы H и OH. Энергия, необходимая для расщепления воды, обеспечивается благодаря поглощению света пигментной системой — хлорофиллом у зеленых растений или сходным с ним по своему строению бактериохлорофиллом у пурпурных бактерий.

В настоящее время работами советских исследователей доказывается возможность обратимого фотохимического окисления — восстановления указанных пигментов и их участия в реакциях переноса водорода (Красновский — 1947; Красновский, Войновская-Кригер — 1951; Войновская-Кригер — 1952).

Разработкой вопросов об энергетической стороне процесса бактериального фотосинтеза занимались Роелофсен (1935), Френч (1937), Сапожников (1937а), Эймерс и Вассинк (1938).

Получающийся при расщеплении воды водород через ряд промежуточных акцепторов (E′) передается углекислоте. Последняя восстанавливается в конечном счете до уровня клеточного материала (CH_2O), а освободившиеся ферменты вновь могут связывать водород. Возникающие при разложении воды гидроксильные ионы также вступают в реакцию с соответствующим ферментом (E″), который при этом окисляется. Для непрерывного удаления из сферы реакции гидроксилов необходимо, чтобы фермент (E″OH) вновь восстановился. В способе восстановления гидроксилакцептирующей системы и проявляется, как считают, основная разница в течении процессов растительного и бактериального фотосинтеза. У зеленых растений, как было показано еще в 1893 г. А. Н. Бахом, происходит образование перекисного комплекса, который затем саморегенерирует с выделением кислорода и воды. Пурпурные же бактерии не способны к подобной реакции.

Следует напомнить, что процесс бактериального фотосинтеза, в отличие от фотосинтеза у зеленых растений, протекает в анаэробных условиях и на более низком энергетическом уровне. Поэтому восстановление гидроксилакцептирующей системы у фотосинтезирующих бактерий совершается, очевидно, только при участии дополнительных донаторов водорода, какими и служат неорганические или органические окисляемые соединения (van Niel — 1941). Отсюда понятно, почему процесс бактериального фотосинтеза не сопровождается выделением кислорода.

Существует, однако, и другое предположение, а именно, что в процессе бактериального фотосинтеза может происходить образование кислорода (Nakamura — 1937). В пользу этой точки зрения Накамура приводит тот факт, что поглощение кислорода пурпурными бактериями значительно уменьшается в присутствии света, поскольку, по его мнению, в таких условиях бактерии используют для «дыхания» кислород, выделяющийся в процессе фотосинтеза. Кроме того, Накамурой (1937) и другими авторами (Roelofsen — 1935; Сапожников — 1938) была обнаружена каталаза у представителей пурпурных бактерий.

Чурда (Czurda — 1936) считал, что образованием пурпурными бактериями кислорода доказывается их способность окислять в процессе развития на свету восстановленную форму индигокармина. Однако ван Ниль (1936) показал, что краска эта использовалась бактериями непосредственно как восстановитель, с чем согласился и Чурда (1937).

Следует также напомнить, что до сих пор никому не удалось прямыми методами обнаружить выделение кислорода пурпурными бактериями. Вероятнее поэтому представляется непосредственное восстановление гидроксилакцептирующего комплекса дополнительными донаторами водорода, тем более, что в энергетическом отношении оно выгоднее, чем вос-

становление выделяющегося при расщеплении перекиси кислорода (Красновский — 1946).

Поскольку фотовосстановление углекислоты пурпурными бактериями связано с наличием в среде окисляемых соединений (которые Гест (1951) называет дополнительными донаторами водорода), то для отражения конечной зависимости этого процесса сохраняет силу представленное выше уравнение ван Ниля (1931), в котором H_2A — органическое или неорганическое окисляемое соединение.

Возвращаясь к вопросу об усвоении в процессе фотосинтеза углекислоты, следует указать, что этот процесс, как предполагают, начинается с присоединения углекислоты к какому-то органическому, возможно, двууглеродному соединению, природа которого остается еще неизвестной. И процесс карбоксилирования, и процесс дальнейшего восстановления образовавшегося комплекса (RCO_2H) не связан непосредственно с наличием лучистой энергии, а осуществляется в темноте с помощью системы ферментов (Красновский — 1947, 1950; Ничипорович — 1948). Однако до сих пор ни для зеленых растений, ни для пурпурных бактерий не установлена точно природа первичных продуктов фотосинтеза. Анализ клеточного вещества пурпурных бактерий показал, что степень восстановленности его выше, чем углеводов (van Niel — 1936).

Пурпурные бактерии значительно лучше развиваются на средах с органическими кислотами, чем с сахарами. Гаффрон (1933, 1946) высказал предположение, что прямым продуктом фотосинтеза у пурпурных бактерий может являться вещество, дающее при деполимеризации кротоновую кислоту ($C_2H_4O_2$), что отмечается Таусоном (1947).

В настоящее время рядом автором указывается на возможность образования в процессе бактериального фотосинтеза фосфорилированных органических соединений (Gest, Kamen — 1948; Wassink, Tjia, Wintermans — 1949).

По данным Гловера (Glover, Kamen, van Genderen — 1952), первичным продуктом фотосинтеза у пурпурных бактерий является фосфоглицериновая кислота, подобно тому как это, возможно, имеет место у зеленых водорослей (Fager, Rosenberg, Gaffron — 1950; Gaffron, Fager, Rosenberg — 1951).

Сравнение бактериального и растительного фотосинтеза показывает, что между этими процессами существует большое сходство и, очевидно, имеется филогенетическая связь. По мнению ряда исследователей (Любименко — 1921, 1935; van Niel — 1943; Ничипорович — 1948; Сапожников — 1951; Рабинович — 1951), пурпурные бактерии по характеру своего обмена занимают промежуточное положение между зелеными растениями и хемосинтетическими организмами.

Как указывал Исаченко (1946), пурпурные бактерии имеют весьма древнее происхождение. Они появились на земле, очевидно, в тот период, когда в атмосфере еще не было кислорода. Приобретение этими микроорганизмами способности усвоения лучистой энергии для восстановления CO_2 имело большое эволюционное значение, поскольку фотоассимиляция углерода из CO_2 значительно эффективнее, чем хемосинтез. Но так как фотовосстановление CO_2 у пурпурных бактерий возможно только при наличии в среде определенных восстановителей («донаторов водорода»), то и распространение этой группы организмов в природе не могло быть очень широким, ограничиваясь местами с наличием таких соединений. Дальнейшим шагом в эволюции было появление зеленых растений, которые оказались способными осуществлять фотосинтетический процесс, используя свет меньшей длины волн, чем бактерии. Получаемая ими энергия оказалась достаточной для регенерации гидроксилакцептирующего комплекса без участия дополнительных донаторов водорода, поэтому зеленые растения получили возможность самого широкого распространения по всему земному шару (van Niel — 1941).

До сих пор некоторые зеленые водоросли, как, например, Chlorella, Scenedesmus, при помещении их в атмосферу водорода или сероводорода оказываются способными восстанавливать CO_2, используя при этом, по-

добно пурпурным бактериям, молекулярный водород или сероводород (Gaffron — 1940, 1946; Улубекова и Кузьмина — 1953).

Наконец, имеющиеся данные по физиологии серных и несерных пурпурных бактерий позволяют сделать вывод о значительном сходстве в характере их обмена. Все эти бактерии являются фотосинтезирующими организмами, обладают весьма сходной пигментной системой и механизмом процесса фотосинтеза. Установлено также, что автотрофные серные бактерии, подобно гетеротрофным несерным, могут использовать для своего развития готовые органические вещества. С другой стороны, отдельные представители несерных бактерий могут восстанавливать CO_2, окисляя одновременно молекулярный водород или неорганические соединения серы.

Для наглядной характеристики обеих групп пурпурных бактерий можно привести следующую таблицу.

Характеристика фотосинтезирующих пурпурных бактерий

(По ван Нилю — 1941)

Подгруппа	Окраска	Использование донаторов		Требование витаминов	Рост в темноте
		неорганическ.	органическ.		
Пурпурные бактерии серные	Красные или коричневые	+	+	—	—
Пурпурные бактерии несерные	Пурпурные, красные, коричневые	+	+	+	+

В последнее время установлено также, что различные виды как серных, так и несерных пурпурных бактерий могут фиксировать молекулярный азот. Отсюда следует, что сходство этих микроорганизмов распространяется не только на процесс фотосинтеза, но и на другие биохимические процессы.

Потребность несерных пурпурных бактерий в витаминах и их способность к развитию в темноте за счет окисления органических соединений кислородом воздуха не рассматривается как доказательство принципиальной разницы в характере обмена серных и несерных пурпурных бактерий.

Отсутствие способности у серных пурпурных бактерий к развитию в темноте по мнению ван Ниля (1941), можно объяснить лишь различной терпимостью двух групп пурпурных бактерий к парциальному давлению кислорода в атмосфере.

Накамура (1937а) считает, что вся разница между серными и несерными пурпурными бактериями состоит в том, что первые не могут восстанавливать элементарную серу и потому она откладывается в их клетках.

Однако, признавая сходство в характере обмена серных и несерных пурпурных бактерий, большинство авторов считает целесообразным сохранить их деление на две группы с учетом возможности выделения промежуточных форм. Одной из таких форм, видимо, является, несерная пурпурная бактерия Rhodopseudomonas palustris, которая, будучи факультативным анаэробом, способна, подобно серным бактериям, окислять неорганические соединения серы и развиваться на минеральных средах с углекислотой.

Но, как правило, большинство несерных пурпурных бактерий требует для своего развития присутствия в среде органических соединений угле-

рода. С другой стороны, использование серными пурпурными бактериями готовых органических веществ не означает, что эти бактерии перестают быть автотрофами, поскольку они сохраняют способность строить все соединения клетки за счет углерода углекислоты (Шапошников — 1942; Кузнецов — 1948).

Наконец, следует напомнить указание Виноградского (1933) о том, что способность серных пурпурных бактерий использовать органические соединения при развитии в лабораторных условиях не означает еще, что они проявляют ее при развитии в природе.

Изучение физиологических особенностей пурпурных бактерий оказывается, таким образом, полезным не только для выяснения вопросов, непосредственно связанных с исследованием бактериального фотосинтеза в целом, но помогает установить также общие черты в процессах обмена у фото-, хемо- и гетеротрофных организмов, что не всегда удается так наглядно выявить на других биологических объектах.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова

Получено 31.V.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

Аристовская Т. В. Использование CO_2 и возможность редукции карбоксила гетеротрофами. Микробиология, X, вып. 6, 1941.
Аристовская Т. В. Об усвоении CO_2 гетеротрофами. Усп. соврем. биол., XVII, 1944.
Бах А. Н. Исследование химического механизма ассимиляции углекислоты хлорофилльными растениями (1893). Собрание трудов по химии и биохимии. Изд. АН СССР. 1950.
Виноградский С. Н. Серобактерии (1887). Микробиология почвы. Изд. АН СССР, 32, 1952.
Виноградский С. Н. Данные о морфологии и физиологии серных бактерий (1888). Микробиология почвы. Изд. АН СССР, 84, 1952.
Виноградский С. Н. Физиологические исследования серобактерий (1889). Микробиология почвы. Изд. АН СССР, 48, 1952.
Виноградский С. Н. Рецензия на работу: Muller, «On the metabolism of the purple sulphur bacteria in organic media». Bull. Inst. Pasteur, 31, 972, 1933.
Володин Н. А. Буровые воды промысла им. Орджоникидзе, окрашенные в розовый цвет. Азерб. нефт. хоз-во, № 6, 1935.
Войновская-Кригер К. К. Исследования фотохимических свойств бактериохлорофилла. Диссертация, М. 1952. Ин-т Биохимии АН СССР.
Гинзбург-Карагичева Т. Л. Очерки микробиологии нефти. М.—Л. 1936.
Годнев Т. Н. О бактериохлорофилле и сопровождающих желтых пигментах. Микробиология, VI, вып. 4, 1937.
Егунов М. А. Серобактерии Одесских лиманов. Архив биол. наук, т. III, 1895.
Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Ледовитого океана (1914). Избр. произв. Изд. АН СССР, I, 111. 1951.
Исаченко Б. Л. О бактериальном исследовании Тамбуканского озера (1915). Избр. произв. Изд. АН СССР, II, 17. 1951.
Исаченко Б. Л. Микробиологические исследования над грязевыми озерами (1927). Избр. произв. Изд. АН СССР, II, 26. 1951.
Исаченко Б. Л. Биологические наблюдения над серными бактериями (1927а). Избр. произв. Изд. АН СССР, II, стр. 188, 1951.
Исаченко Б. Л. Обзор работ по микробиологии грязевых и минеральных источников (1917—1937). Микробиология, VI, вып. 4, 1937.
Исаченко Б. Л. Микробиологические исследования морей СССР (1917—1937). Микробиология, VI, вып. 8, 1937а.
Исаченко Б. Л. Пурпурные бактерии с нижних границ биосферы (1939). Избр. произв. Изд. АН СССР, II, 200, 1951.
Исаченко Б. Л. Развитие пурпурных бактерий в темноте (1940). Избр. произв. Изд. АН СССР, II, 209, 1951.
Исаченко Б. Л. Наблюдения над появлением окраски у пурпурных серобактерий (1943). Избр. произв. Изд. АН СССР, II, 210. 1951.
Исаченко Б. Л. Серобактерии из нефтяных скважин. Микробиология, XV, вып. 6, 1946.
Исаченко Б. Л. Микроорганизмы с нижних слоев биосферы в связи с генезисом нефти (1948). Избр. произв. Изд. АН СССР, II, 218, 1951.
Конгиссер Р. О серо- и железобактериях острова Карагинского (Берингово море). Микробиологическ. журнал, XII, вып. 2, 1931.

Крисс А. Е., Рукина Е. А. Пурпурные серобактерии в сероводородных глубинах Черного моря. ДАН СССР, XCIII, № 6, 1953.
Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд. АН СССР, 1949.
Красновский А. А. Современные представления о фотосинтезе. Успехи совр. биол., XXI, вып. 2, 1946.
Красновский А. А. О фотохимии фотосинтеза. Изв. АН СССР. Серия биол., 3, 1947.
Красновский А. А. Фотосинтез растений. Усп. биол. химии, I, 1950.
Красновский А. А. и Войновская-Кригер К. К. Обратимое фотохимическое восстановление и окисление бактериохлорофилла и бактериофеофитина. ДАН СССР, 81, № 8, 1951.
Кузнецов С. И. Круговорот серы в озерах. Микробиология, XI, вып. 5—6, 1942.
Кузнецов С. И. Проблема автотрофии у микроорганизмов (Обзор литературы). Микробиология, XVII, вып. 4, 1948.
Кузнецов С. И. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. Изд. АН СССР. 1952.
Лебедев А. Ф. Об ассимиляции углерода сапрофитами. Изв. Донского гос. ун-та, кн. 1, 25, 1921.
Любименко В. Н. О пигментной системе пурпурных бактерий. Журнал русск. ботан. об-ва, VI, 97, 1921.
Любименко В. Н. Фотосинтез и хемосинтез в растительном мире. М. Сельхозгиз. 1935.
Мальшек В. Г., Мальянц А. Н. и Рейнфельд Э. А. Наличие серобактерий в «розовых» водах. Азерб. нефт. хоз-во, № 7—8, 1935.
Надсон Г. А. Наблюдения над пурпурными бактериями. Изв. СПБ. ботан. сада, III, вып. 4, 1903.
Надсон Г. А. Микробиологические очерки. Изв. СПБ. ботан. сада, XII, вып. 2—3, 1912.
Ничипорович А. А. Фотосинтез растений. Стенограмма публичной лекции. 1948.
Осницкая Л. К. Пигментная система пурпурных бактерий (обзор). Микробиология, XIX, вып. 2, 1950.
Осницкая Л. К. Новый вид пурпурной бактерии из пластовых вод нефтяного месторождения. Тр. ИНМИ, стр. 5, 1954.
Пельш А. Д. О фотосинтезирующих серобактериях восточного бассейна Сакского озера. Микробиология, VI, вып. 8, 1937а.
Пельш А. Д. О «биологической зоне» сакской грязи. Микробиология, VI, вып. 8, 1937.
Рабинович Е. Фотосинтез. Перевод с англ. М., 1951.
Сапожников Д. И. О замене серы селеном в фоторедукции углекислоты пурпурными бактериями. Микробиология, VI, вып. 5, 1937.
Сапожников Д. И. Влияние окислительно-восстановительных свойств среды на квантовый выход у сернопурпурных бактерий. Биохимия, II, вып. 2, 1937а.
Сапожников Д. И. О каталазе у сернопурпурных бактерий. Микробиология, VII вып. 3, 1938.
Сапожников Д. И. Эволюция фотосинтеза у низших организмов. Микробиология, XX, вып. 5, 1951.
Селибер Г. Разложение жиров пурпурными бактериями. Изв. Научн. ин-та им. П. Ф. Лесгафта, IX, вып. 2, 1924.
Селибер Г. Культура пурпурных бактерий при электрическом свете. Изв. Научн. ин-та им. П. Ф. Лесгафта, XIV, вып. 1 и 2, 1928.
Степаненко Б. Н. Современные представления о химическом строении хлорофилла. Изв. АН СССР. Серия биол., 3, 1947.
Стефенсон М. Метаболизм бактерий. Перевод с англ. М. 1951.
Тоусон В. О. О продуктах фото- и хемосинтеза. Изв. АН СССР. Сер. биол., 3, 1947.
Улубекова М. В., Кузьмина Л. А. Применение C^{14} к изучению фоторедукции и хемосинтеза зеленых водорослей. Доклады АН СССР, XIII, № 5, 1953.
Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. М. 1948.
Чесноков В. А. и Сапожников Д. И. Влияние pH на развитие сернопурпурных бактерий. Биохимия, 1, вып. 1, 1936.
Чесноков В. А. и Сапожников Д. И. Развитие серных пурпурных бактерий на органических кислотах. Биохимия, 1, вып. 2, 1936а.
Шапошников В. Н. О значении физиологических признаков в систематике микроорганизмов. (Критика современных построений). Микробиология, XI, вып. 1—2, 1942.
Шапошников В. Н. Углекислота в обмене веществ гетеротрофных организмов. (Обзор). Микробиология, XXI, вып. 6, 1952.
Шпольский Э. В. Спектр поглощения хлорофилла в естественном состоянии. Изв. АН СССР. Серия биол. 3, 1947.
Bavendamm W. Die farblosen und roten Schwefelbakterien der Süss- und Salzwasser. Grundlinien zu einer Monographie. Jena, 1924.
Bregoff H. M. a. Kamen M. D. Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria. XIV. Quantitative relations between malate dissimilation, photoproduction of

hydrogen and nitrogen metabolism in Rhodospirillum rubrum. Arch. Biochem. a. Biophys., **36**, No 1, 1952.
Bregoff H. M. a. Kamen M. D. Photohydrogen production in Chromatium. J. Bact., **63**, No 1, 147, 1952a.
Buder J. Zur Biologie des Bakteriumpurpurin und der Purpurbakterien. Jahrb. wiss. Botan., 58, 525, 1919.
Buder J. Aus der Biologie des Purpurbakterien. Naturwiss., 4 April. VII Jahrg., Nr. 14/15, 261, 1920.
Clayton R. K. Studies in the phototaxis of Rhodospirillum rubrum. I. Action spectrum, growth in green light, and Weber law adherence. II. The relation between phototaxis and photosynthesis. III. Quantitative relation between stimulus and response. Arch. Microbiol., **19**, No 2, 107, 1953.
Cutinelli C., Ehrensvaerd G. a. Reio L. Acetic acid metabolism in Rhodospirillum rubrum under anaerobis conditions. Ark. Kemi, **2**, p. 357, 1950.
Cutinelli C., Ehrensvaerd G., Saluste et al. Acetic acid metabolism in Rhodospirillum rubrum under anaerobic conditions. II. Ark. Kemi, **3**, No 32, 315, 1951.
Cutinelli C., Ehrensvaerd C., Hogstrom G. et al. Acetic acid metabolism in Rhodospirillum rubrum under anaerobic conditions. Ark. Kemi, **3**, 53, 1952.
Czurda V. Nachweis der Sauerstoff-Abscheidung im Assimilationsprocess der Thiorhodaceen. Arch. Mikrobiol., **7**, H. I, 110, 1936.
Czurda V. Second. Intern. Congr. Microbiol. Rept. Proceed. London, 470, 1937.
Czurda V. und Maresch E. Beiträge zur Kenntnis der Athiorhodobakteriengesellschaften. Arch. Mikrobiol., 8, 99, 1937.
Duchow E. and Douglas H. C. Rhodomicrobium vannielli, a new photoheterotrophic bacterium. J. Bact., 58, 409, 1949.
Duysens N. M. Reversible Photo-oxidation of a citochrome pigment in photosynthesizing Rhodospirillum rubrum. Nature, **173**, № 4406, 693, 1954.
Ehrensvaerd G. and Reio L. Die Bildung vom Tyrosin unter anaeroben Bedingungen durch Rhodospirillum rubrum bei Kultur mit isotopenmarkiertem Acetat und Kohlendioxyd. Ark. Kemi, **5**, 327, 1953.
Eisenberg M. E. The tricarboxylic acid cycle in Rhodospirillum rubrum. J. Biol. Chem., 203, № 2, 815, 1953.
Engelmann Th. W. Bacterium photometricum. Ein Beitrag zur vergleichenden Physiologie des Licht- und Farbensinnes. Pflügers Arch. Ges. Physiolog., **30**, 95, 1883.
Engelmann Th. W. Die Purpurbakterien und ihre Beziehungen zum Licht. Bot. Ztg., **46**, 661, 1888.
Eymers J. G. and Wassink E. G. On the photo-chemical carbon dioxide assimilation in purple sulphur bacteria. Enzym., VII, Fasc. 5, 258, 1938.
Fager E. W., Rosenberg J. L. a. Gaffron H. Intermediates in Photosynthesis. Federation Proc., 9, № 2, 535, June 1950.
Fischer H. u. Riedmaier et al. Über Oxo-porphyrine; ein Beitrag zur Kenntnis der Feinkultur von Chlorophyll. a. Ann. Chem., **508**, 224, 1934.
Fischer H. u. Lambrecht R. Über Bacteriochlorophyll. a. Z. Physiol. Chem., **249**, 1, 1937.
Foster J. W. The role of organic substrates in photosynthesis of purple bacteria. J. Gen. Physiol., 24, No 2, 123, 1940.
Foster J. W. Oxidation of alcohols by non-sulphur photosynthetic bacteria. J. Bact., **47**, No 4, 355, 1944.
Foster J. W. Autotrophic assimilation of carbon dioxide. В кн.: Bacterial physiology ed. by Werkman a. Wilson, N. Y., 1951: также в русск. переводе в книге «Физиология бактерий». Изд. иностр. литер., М., 273, 1954.
Frank J. and Gaffron H. Photosynthesis. Facts and interpretations. В кн.: Adv. Enz., 1, 199, N. Y., 1941.
French C. S. The quantum yield of hydrogen and carbon dioxide assimilation in purple bacterium. J. Gen. Physiol., **20**, No 5, 711, 1937.
French C. S. The rate of CO_2 assimilation by purple bacteria at various wavelengths of light. J. Gen. Physiol., **21**, 71, 1937a.
Gaffron H. Über den Stoffwechsel der schwefelfreien Purpurbakterien. Biochem. Z., 260, 1, 1933.
Gaffron H. Über die Kohlensäureassimilation der roten Schwefelbakterien. Biochem. Z., **269**, H. 4, 447, 1934.
Gaffron H. Über den Stoffwechsel der Purpurbakterien, II. Biochem. Z., **275**, 301, 1935.
Gaffron H. Carbon dioxide reduction with molecular hydrogen in green algae. Am. J. Botan., **27**, 273, 1940.
Gaffron H. Photosynthesis and the production of organic matter of earth. В кн.: Currents in biochemical research, N. Y., 25, 1946.
Gaffron H., Fager E. W. a. Rosenberg J. L. Intermediates in photosynthetic formation and transformation of phosphoglyceric acid. Symposia Soc. Expl., Biol., **5**, 262, 1951.
Gest H. Anaerobic oxidation of malate and hydrogen in the dark by Rhodospirillum rubrum. Bact. Proc., 136, 1950.
Gest H. Metabolic patterns in photosynthetic bacteria. Bact. Rev., **15**, No 4, 183, 1951.

Gest H. Enzymatic oxidation of molecular hydrogen by bacterial extracts. Federation Proc., **10**, 188, 1951a.
Gest H. Properties of cell-free hydrogenases of Escherichia coli and Rhodospirillum rubrum. J. Bacter., **63**, 111, 1952.
Gest H. Oxidation and evolution of molecular hydrogen by microorganisms. Bact. Rev., No 1, 1954.
Gest H. a. Kamen M. D. Studies on the phosphorous metabolism of green algae and purple bacteria in relation to photosynthesis. J. Biol. Chem., **176**, 299, 1948.
Gest H. a. Kamen M. D. Photoproduction of molecular hydrogen by Rhodospirillum rubrum. Science, **109**, No 2840, 558, 1949.
Gest H. a. Kamen M. D. Studies on metabolism of photosynthetic bacteria. IV. Photochemical production of molecular hydrogen by growing cultures of photosynthetic bacteria. J. Bacter. Aug., 58, No 2, 239, 1949a.
Gest H., Kamen M. a. Brehoff H. M. Studies on the metabolism, of photosynthetic bacteria. V. Photoproduction of hydrogen and nitrogen fixation by Rhodospirillum rubrum. J. Biol. Chem., **182**, 153, 1950.
Glover J. a. Kamen M. D. Observations on the simultaneous metabolism of acetate and carbon dioxide by resting cell suspensions of Rhodospirillum rubrum. Federation Proc., **10**, 190, 1951.
Glover J., Kamen M. D. a. van Genderen. Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria. XII. Comparative light and dark metabolism of acetate and carbonate by Rhodospirillum rubrum. Arch. Biochem. and Biophys., **35**, No 2, 384, 1952.
Hutner S. H. Growth requirements of photosynthetic bacterium Rhodospirillum rubrum. Arch. Biochem., **3**, 439, 1944.
Hutner S. H. Organic growth essentials of the aerobic nonsulfur photosynthetic bacteria. J. Bact., **52**, 213, 1946.
Hutner S. H. Anaerobic and aerobic growth of purple bacteria (Athiorhodaceae) in chemically defined media. J. Gen. Microbiol., **4**, 286, 1950.
Kamen M. D. Hydrogenase activity and photoassimilation. Federation Proc., **9**, 545, 1950.
Kamen M. D., Ajl S. J., Ranson S. L. and Siegel J. M. Nonequivalence of metyl and carboxyl groups in photometabolism of acetate by Rhodospirillum rubrum. Science, **109**, 2840, 560, 1949.
Kohlmiller E. F., a. Gest H. A comparative study of the light and dark fermentation of organic acids by Rhodospirillum rubrum. J. Bact., **61**, 269, 1951.
Lascelles J. Porphyrin synthesis by Rhodospirillum spheroides. Biochem. J., **55**, № 1, 1953.
Lindstrom E. S., Burris R. H. a. Wilson P. W. Nitrogen fixation by photosynthetic bacteria. J. Bact., **58**, No 3, 313, 1949.
Lindstrom E. S., Lewis S. M. a. Pinsky M. J. Nitrogen fixation and hydrogenase in various bacterial species. J. Bact., **61**, 481, 1951.
Lindstrom E. S., Tove R. a. Wilson P. W. Nitrogen fixation by the green and purple sulfur bacteria. Science, **112**, 197, 1950.
Lindstrom E. S. a. Wilson P. W. Photosynthesis and nitrogen fixation in Rhodospirillum rubrum. Bact. Proc., 134, 1951.
Lindstrom E. S., Newton J. W. and Wilson P. W. The relationship between phosphosynthesis and nitrogen fixation. Proc. Acad. Sci., **38**, 393, 1952. Ref.: Bull. Inst. Pasteur, Nr. 2, 124, fevr. 1934.
Manten A. Phototaxis in the purple bacterium Rhodospirillum and the relation between phototaxis and photosynthesis. Antonie van Leeuwenhoeck, J. Microbiol. and Serology, **14**, No 2, 66, 1948.
Milatz J. M. a. Manten A. The quantitative determination of the spectral distribution of phototaxic sensitivity in the purple bacterium Rhodospirillum rubrum. Biochem. a. Biophys. Acta., **11**, No 1, 17, 1953.
Molisch H. Die Purpurbakterien nach neuen Untersuchungen. Jena, 1907.
Muller F. M. On the metabolism of the purple sulfur bacteria in organic media. Arch. Mikrobiol., B. 4, No 2, 131, 1933.
Murray R. G. K. a. Douglas H. G. The reproductive mechanism of Rhodomicrobium vannielli and the accompanying nuclear changes. J. Bact., **59**, № 2, 157, 1950.
Nakamura H. Über die Photosynthese bei der schwefelfreien Purpurbakterie Rhodobazillus palustris. Beiträge zur Stoffwechselphysiologie der Purpurbakterien. Acta Phytochim. (Japan), **9**, Nr 2, 189, 1937.
Nakamura H. Über das Vorkommen der Hydrogenlyase in Rhodospirillum palustris und über ihre Rolle in Photosynthese. Acta Phytochim., **10**, Nr 1, 211, 1937a.
Nakamura H. Über die Kohlensäureassimilation von Rhodobacillus giganteum. Acta Phytochim., B. **9** Nr 2, 231, 1937b.
Nakamura H. Über die Rolle der Hydrogenase in Stoffwechsel von Rhodobacillus palustris. Beiträge zur Stoffwechselphysiologie der Purpurbakterien. IV. Acta Phytochim. (Japan), **10**, 259, 1938.
Nakamura H. Weitere Untersuchungen über den Wasserstoffumsatz bei den Purpurbakterien, nebst einer Bemerkung über gegenseitige Beziehung zwischen Thio-und

Anthiorhodaceae. Beiträge zur Stoffwechselphysiologie der Purpurbakterien. V. Acta Phytochim., 11, 109, 1939.
Nakamura H. Weitere Untersuchungen über die bakterielle Photosynthese. Beiträge zur Stoffwechselphysiologie der Purpurbakterien. VI. Acta Phytochim., 12, 43, 1941.
Newton J. W. a. Wilson P. W. Nitrogen fixation and photoproduction of molecular hydrogen by Thiorhodaceae. Antonie van Leeuwenhoeck, J. of Microbiol. and Serology, 19, 71, 1953.
Roelofsen P. A. On the photosynthesis of the Thiorhodaceae. Diss. Utrecht, 1935.
Schneider E. Über das Bacteriochlorophyll der Purpurbakterien. Z. phys. Chem., 226. 221, 1934.
Siegel J. M. The metabolism of aceton by the photosynthetic bacteria. J. Bacter., 59, Nr 3, 693, 1950.
Siegel J. M. a. Kamen M. D. Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria. Metabolism of isopropanol by a new strain of Rhodopseudomonas gelatinosa. J., Bacter. 59, No 5, 693, 1950.
Siegel J. M. a. Kamen M. D. Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria. VII. Comparative studies of the photoproduction of H_2 by Rhodopseudomonas gelatinosa and Rhodospirillum rubrum. J. Bacter, 61, 215, 1951.
Tarver H., Tabachnik M., Canellakis. Biosynthesis of C^{14}-labeled protein and aminoacids with Rhodospirillum rubrum. Arch. Biochem. a. Biophys., 41, No 1, 1952.
Thomas J. B. On the role of carotenoids in photosynthesis of Rhodospirillum rubrum. Biochem. a. Biophys. Acta, 5, No 2, 186, 1950.
Thomas J. B. and Goedheer J. C. Relative efficiency of light absorbed by carotenoids in photosynthesis and phototaxis of Rhodospirillum rubrum. Biochem. a. Biophys. Acta, 10, No 2, 385, 1953.
Thomas J. B. a. Nijenhuis J. E. On the relation between phototaxis and photosynthesis in Rhodospirillum rubrum. Biochem. a. Biophys. Acta, 6, No 2, 317, 1950.
van Niel C. B. On the morphology and physiology of the purple and green sulfur bacteria. Arch. Mikrobiol., 3, H. 1, 1931.
van Niel C. B. On the metabolism of the Thiorhodaceae. Arch. Mikrobiol., 7, H. 3. 322, 1936.
van Niel C. B. The bacterial photosynthesis and their importance for the general problems of photosynthesis. В кн.: Advances in Enzymology and related subjects. N. Y., I, 263, 1941.
van Niel C. B. Biochemical problems of the chemoautotrophic bacteria. Physiol. Rev., 23, No 4, 338, 1943.
van Niel C. B. The culture, general physiology, morphology and classification of the non-sulfur purple and brown bacteria. Bact. Rev., 8, No 1, 1, March, 1944.
van Niel C. B. The comparative biochemistry of photosynthesis. В кн.: Photosynthesis in Plants. Iowa State College Press. 437, 1949.
van Niel C. B. Introductory remarks on the comparative biochemistry of microorganisms. J. Cellular and Comparative Physiol., 41, Suppl. I, 11, 1953.
Vernon L. P. Cytochrome content of Rhodospirillum rubrum. Arch. Biochem. a. Biophys., 43, No 2, 492, 1953.
Vernon L. P. a. Kamen M. D. Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria. XV. Photoautoxidation of ferrocytochrome C. in extracts of Rhodosprillum rubrum. Arch. Biochem. a. Biophys., 44, No 2, 298, 1953.
Wagenknecht A. C. a. Burris R. H. Distribution of N^{15} in the amino acids of Rhodospirillum rubrum supplied N_2. Federation Proc., 19, 242, 1950.
Wall J. S., Wagenknecht A. C., Newton J. W. a. Burris R. Comparison of the metabolism of ammonia and molecular nitrogen in Photosynthesizing bacteria. J. Bact., 63, No 5, 563, May, 1952.
Wassink E. C. Photosynthesis of purple sulfur bacteria in connection with observations on the redox potential of the suspension. В кн.: Rept. Fourth Intern. Congress for Microbiology, 1947, Copenhag., 1949.
Wassink E. C., Tjia J. E. and Wintermans J. F. Phosphate-exchanges in purple sulphur bacteria in connection with photosynthesis. Proceedings koninkl. Nederlandsche Akademie van Wetenschappen, 52, Nr 4, 412, April, 1949.
Wilson P. W. a. Burris R. H. Mechanism of biological nitrogen fixation. Bact. Rev., II No 1, 1947.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Baribo L. E. and Foster E. M. **Some characteristics of the growth inhibitor produced by a Lactic streptococcus.** (Некоторые характеристики ингибитора роста, продуцируемого Str. lactis), J. Dairy Science, vol. XXXIV, № 1, p. 1128, 1951.

Авторы своими наблюдениями подтвердили данные других исследователей, что некоторые штаммы молочнокислых стрептококков способны продуцировать вещество, которое тормозило рост Lactobact. casei, Lactobact. bulgaricum, Str. liquefaciens и других микроорганизмов.

В данной статье приводятся некоторые характеристики ингибитора роста, продуцируемого коллекционными штаммами Str. lactis, для сравнения их с таковыми, описанными другими исследователями.

В качестве активного продуцента ингибитора применялась культура Str. lactis 16. тест-организмом служила культура Lactobact. casei 65. Для получения тест-материала 24-часовая бульонная культура молочнокислых стрептококков подвергалась действию пара в течение 5 минут или же сгущалась в два раза под вакуумом (65 мм ртутного столба, t — 50—60°), а затем обрабатывалась паром в течение 5 минут и хранилась при 5° до употребления. Первый тест-материал (без сгущения) применялся в опытах по изучению распределения ингибитора в культурах Str. lactis и влияния pH на подавление роста Lactobact. casei, второй (сгущенный) — в опытах по изучению влияния pH на устойчивость ингибитора к нагреванию.

На основании проведенных исследований авторы пришли к следующим выводам. Ингибиторное вещество, продуцируемое Str. lactis, было связано с клетками, но освобождалось от них под действием кислоты.

Кипячение или автоклавирование культур Str. lactis в течение 10 минут при pH = 4,8 имело незначительное влияние на его ингибиторную активность, но нагревание при pH = 7,4 быстро разрушало около половины ингибитора в культуре. Ингибитор в нейтральной или щелочной средах каким-то образом защищен от инактивирования нагреванием, когда он связан с клетками, но когда он находился в свободном состоянии в питательной среде, он быстро разрушался при нагревании.

При кислых реакциях он относительно устойчив к нагреванию, независимо от того, связан ли он с клеткой или нет. Ингибиторное вещество при кислой реакции было не только устойчиво, но оно было также более активно. Его способность к подавлению роста Lactobact. casei заметно увеличивалась, когда реакция питательной среды была ниже pH = 5,4.

Н. Белоусова

Pette J. W., Kooy J. S. **The inhibition of butyric acid fermentation by antibiotic producing starter.** (Торможение маслянокислого брожения антибиотиком, вырабатываемым закваской). XIIIth International Dairy Congress, the Hagve June 22—26, vol. 1, 1953.

Из сыра, сырого молока и экскрементов были выделены 11 культур Str. lactis, которые вырабатывали вещество, антибиотически активное по отношению к другим молочнокислым бактериям. Эти культуры были также активны по отношению Leuconostoc citrovorus, но не по отношению Lactobact. plantarum. По их антибиотической активности они могли быть разделены на несколько групп.

Предложен простой метод для сравнения антибиотической активности фильтратов культуры. Эта активность была различной для различных культур. Показана активность фильтратов культуры в отношении маслянокислых бактерий, сбраживающих лактаты (Cl. tyrobutyricum). На нарушение маслянокислого брожения влияло в значительной степени количество добавленного фильтрата и процент введенных маслянокислых бактерий.

В опытных выработках сыра газообразование Cl. tyrobutyricum предупреждалось применением в качестве закваски штаммов Str. lactis, образующих антибиотик, за исключением одного опыта, когда брожение было только замедлено. В этом опыте имело место быстрое разрушение антибиотика, вызванное Lactobact. plantarum.

Во всех случаях в сырах из сырого молока наблюдалось разрушение антибиотика Lactobact. plantarum, в сырах из пастеризованного молока разрушение не происходило. Это легко объяснимо, так как Lactobact. plantarum могли быть убиты нагреванием при 63° в течение 5 мин. и при 70° в течение 30 секунд.

Только часть из испытанных культур Lactobact. plantarum была способна разрушать антибиотик. Установлено их присутствие в сыром молоке, они показывали хороший рост в сыре.

Расы Lactobact. casei оказались способными противодействовать способности Lactobact. plantarum разрушать антибиотик, сохраняя таким образом ценный антибиотик, который был активным по отношению Cl. tyrobutyricum. Проведенные опыты выработки сыра с целью подавления маслянокислого брожения при помощи антибиотической закваски являются многообещающими.

Н. Белоусова

Czulan J. **Control of airborne bacteriophage by ultra-violet irradiation.** (Борьба с бактериофагом в воздухе ультра-фиолетовым облучением). XIIIth International Dairy Congress, the Hagve, June 22—26, vol. 1, 1953.

Облучение ультрафиолетом, как способ инактивации фага в воздухе, было испытано путем распыления препарата с высоким титром фага в двух комнатах, в одной из которых были установлены две ультрафиолетовые лампы, и было произведено сравнение количества фага на триптоно-дрожжево-экстрактных агаровых чашках, выдержанных в течение 1 мин. 30 сек. При высоких концентрациях фага в воздухе количество пятен было существенно уменьшено в комнате, которая облучалась в течение 5 мин., и еще более значительно — после 10 мин. Ни одного пятна не было найдено после 25 мин. облучения, в то время как соответствующие чашки в контрольной комнате еще показывали значительную концентрацию фага в воздухе. Это указывает, что облучение ультрафиолетом комнат, в которых производится приготовление закваски и сепарирование сыворотки, является пригодным дополнительным средством для борьбы с фагом в воздухе на сырзаводах.

Н. Белоусова

Baribo L. E. and Foster E. M. **The Production of a growth inhibitor by lactic streptococci.** (Продуцирование ингибитора роста молочнокислыми стрептококками). Dairy Science, vol. XXXIV, № 1, 1136, 1951.

Многими исследователями была описана способность некоторых штаммов молочнокислых стрептококков продуцировать термоустойчивое вещество, которое тормозило рост других молочнокислых бактерий. Степень торможения зависела от активности продуцирования такого вещества молочнокислыми стрептококками и от чувствительности различных молочнокислых бактерий к нему.

Предполагая, что это явление может иметь значение при выработке сыра, если такие штаммы будут находиться в составе закваски, авторы испытали Str. lactis на способность к торможению роста Lactobact. casei.

Было исследовано: 1) действие Str. lactis на тест-организмы; 2) образование ингибитора различными штаммами молочнокислых стрептококков; 3) влияние длительного выращивания Lactobact. casei в присутствии ингибиторного фактора; 4) влияние продолжительности инкубации на образование ингибитора; 5) влияние питательной среды на образование ингибитора и 6) образование ингибитора при выработке сыра. Определение действия Str. lactis на тест-организмы проводилось на живых и на убитых 5-минутным нагреванием клетках. Str. lactis и Lactob. casei культивировались вместе и отдельно; через определенные промежутки времени измерялось pH и подсчитывалось под микроскопом число клеток или торможение определялось по степени мутности.

Девять штаммов Str. lactis и Str. cremoris и три производственные закваски продуцировали вещество, которое тормозило рост Lactobact. casei, а также рост определенных штаммов Str. lactis, хотя в меньшей степени, чем рост палочек.

Молочнокислые стрептококки значительно различаются по способности продуцировать ингибитор, а Lactobact. casei также сильно различаются по их чувствительности к ингибитору. Торможение роста палочек появляется между 24—36 часами и удерживается свыше 60 часов. Однако через 110 часов рост тест-культур был примерно такой же, как и в контроле. Очевидно, или ингибитор исчез во время выдержки, или палочки постепенно приспособились к росту в его присутствии.

Для выявления влияния питательной среды на образование ингибитора Str. lactis были исследованы бульоны: гидролизованный казеиновый, дрожжево-глюкозный, дрожжево-глюкозо-триптоновый и морковно-печеночный. Наибольшее количество ингибитора образовалось при культивировании Str. lactis в гидролизованном казеиновом бульоне и наименьшее — в морковно-печеночном.

При выработке сыра чеддер с применением обычной производственной закваски ингибитор к Lactobact. casei был обнаружен в сыворотке и зерне уже на ранних ста-

диях технологического процесса. Концентрация его увеличилась во время процесса выработки сыра до конца прессования.

Таким образом, ингибитор, продуцируемый культурами закваски, может затормозить развитие молочнокислых палочек в сыре во время созревания. Время, необходимое молочнокислым палочкам для преодоления действия ингибитора, зависит как от концентрации его, так и от количества и вида палочек в молоке. Поэтому при подборе культур, входящих в состав закваски, необходимо производить проверку их на ингибиторную активность.

Н. Белоусова

Winkler S. **About antibiotic effects of lactobacilli on propionic bacteria.** (Об антибиотическом действии молочнокислых бактерий на пропионовокислые бактерии). XIIIth International Dairy Congress, the Hagve, June 22—26, vol. 1, 1953.

Было изучено действие молочнокислых бактерий (6 культур Lactobact. lactis, 3 культур Lactobact. helveticus и 3 культур Lactobact. acidophilus) на 17 культур пропионовокислых бактерий.

Ингибиторное вещество, образуемое молочнокислыми бактериями в молоке, было активно в 16,18% всех испытанных случаев и не разрушалось при 85° в течение 10 мин. Оно было еще активно в разведении 1 : 10 до 1 : 100. Ингибиторное вещество образовывалось также в пептонизированном молоке в 7,35% всех испытанных случаев. Однако Lactob. lactis это вещество не образовывали. Это второе ингибиторное вещество было термолабильно и поэтому разрушалось при 85°.

Н. Белоусова

Harper W. J. **Direct chromatographic determination of acetic, propionic and butyric acids in cheese.** (Непосредственное хроматографическое определение уксусной, пропионовой и масляной кислот в сыре). Dairy Science, vol. XXXV, № 6, 808, 1953.

Авторами предложен упрощенный хроматографический метод, который позволяет вводить образец непосредственно в хроматографическую колонку и дает возможность разделить в сыре уксусную, пропионовую и масляную кислоты, а также пировиноградную.

Метод сравнивался с другими хроматографическими методами, требующими дистилляции, и получено достаточно хорошее совпадение.

Предлагаемый метод кратко заключается в следующем:

1. 10 г сухой кремневой кислоты смешивают в ступке с 6 мл фосфатного буфера с pH = 6,5 (2 М K_2HPO_4 и 2 М KH_2PO_4), добавляют 40—50 мл хлороформа (трижды промытого равными объемами дестиллированной воды при 25°). Смесь выливают в колонку из стекла пирекс (35 × 250 мм), на дно которой помещен фарфоровый кружок с отверстиями, а сверху на него — кружок из фильтровальной бумаги. Сверху смеси накладывают кружок из фильтровальной бумаги.

2. 3 г сухой кремневой кислоты смешивают в ступке с 1,5 мл 10%-ной H_2SO_4, затем добавляют 20—30 мл хлороформа и смесь выливают в колонку. Сверху опять помещают кружок из фильтровальной бумаги.

3. К 5 г сыра добавляют 20% H_2SO_4, чтобы довести pH до 1,7—2, а затем доводят объем раствора водой до 3 мл. Прибавляют 10 г сухой кремневой кислоты и смесь тщательно растирают и выливают в колонку. Для смывания применяют 50 мл хлороформа.

4. Когда растворитель находится на 2 мм выше верха кремневогелевой колонки, добавляют дополнительно кратные части его. Когда уровень растворителя, добавленного в секцию с образцом, находится на 2 мм выше верха колонки, наливают 25 мл хлороформа. Когда от верха колонки осталось от 2 до 4 мм этого растворителя, добавляют 25 мл 0,5% н-бутанола в хлороформе. Таким же образом последовательно добавлялись следующие растворители: 50 мл 1%-ного н-бутанола в хлороформе; 75 мл 5%-ного н-бутанола в хлороформе; 100 мл 20%-ного н-бутанола в хлороформе и, наконец, 20% н-бутанол в хлороформе до завершения хроматографии.

5. В 25-мл колбы переносят фракции по 5 мл и титруют 0,01 N KOH в абсолютном спирте, применяя в качестве индикатора фенол красный в абсолютном этиловом спирте.

Метод оказался пригодным как для молодого, так и для зрелого сыра. Он был применен к сырам: швейцарскому, чеддеру, голубому и другим. Возможно, что метод может быть использован для определения уксусной, пропионовой и масляной кислот, содержащихся в закваске для сыра, в масле, сливках и других молочных продуктах. Для этого потребуются лишь незначительные изменения в концентрациях бутанола в хлороформе.

Н. Белоусова

Newton J., Wilson P., and Burris R. **Direct demonstration of ammonia as an intermediate in Nitrogen fixation by Azotobacter.** (Непосредственное обнаружение аммиака как промежуточного продукта при азотфиксации у азотобактера). J. Biol. Chem., v. 204, No 1, pp. 445—450, 1953.

Уже в предыдущих работах по изучению механизма азотфиксации у азотобактера с помощью меченого азота американские исследователи (J. Bact., v. 52, No. 5, 1946; J. Biol. Chem., v. 143, No. 2, 1942 и J. Biol. Chem., v. 165, No. 9, 1946) пришли к заключению, что наиболее вероятным промежуточным продуктом является аммиак. В настоящей работе авторам удалось непосредственно обнаружить аммиак, как первый стабильный продукт азотфиксации. Работа велась с густыми суспензиями Az. agile в возрасте 15—20 часов, выращенного на качалках на безазотистой среде с сахаром. Размножение клеток в них уже не происходило. К суспензиям добавлялся уксуснокислый аммоний с меченым N^{15} и N_2 или меченый N_2^{15} и обыкновенный уксуснокислый аммоний. Через несколько часов определялось содержание меченого азота в клетках и в аммиаке, отогнанном из среды. Оказалось, что у Az. agile азотфиксация в густых суспензиях протекала одновременно с потреблением аммиачного азота из среды. При использовании меченого аммиака и немеченного свободного азота из жидкости над клетками можно выделить меченый недоиспользованный аммиак, «разбавленный» немеченным аммиаком, образовавшимся при фиксации.

При усвоении меченого N_2^{15} и немеченного аммиака из среды выделяется, наряду с недоиспользованным немеченным аммиаком, меченый аммиак — продукт азотфиксации. Меченый фиксированный азот обнаруживается в теле азотобактера, и именно в глютаминовой кислоте. Это было обнаружено еще в прежних работах. В настоящей работе показано, что сперва фиксированный меченый азот обнаруживается в аммиаке, отогнанном из среды, и только позже он начинает накапливаться в глютаминовой кислоте. Таким образом, аммиак не может быть продуктом дезаминирования, а является промежуточным продуктом азотфиксации. В заключение авторы предполагают, что в густых суспензиях размножение заторможено, а азотфиксация продолжается и накапливается продукт азотфиксации.

Примечание референта.

В работах американских авторов нет упоминаний о работах Виноградского по механизму азотфиксации. Между тем еще в 1930 г. Виноградский высказал мысль, что если затормозить размножение и связанное с ним потребление азота на построение тела, то недоиспользованный продукт азотфиксации выделяется в окружающую среду, что и было им экспериментально подтверждено весьма простыми методическими приемами. Торможение развития в опытах Виноградского осуществлялось повышением pH до 9, причем подщелочение развивалось самими бактериями в результате использования щелочных солей органических кислот в качестве единственного источника углерода. Такого рода разлаживания размножения и азотфиксации можно достичь, культивируя азотобактер при некоторых определенных условиях аэрации (Работнова, Кондратьева и др., Микробиология, XVIII, 509, 1949). Но обычно при культивировании на средах с сахарами весь фиксированный азот потребляется на построение клеток и в среде не обнаруживается. Для того чтобы придти к заключению, которое сделали в конечном итоге американские авторы, им понадобилось проделать многолетнюю, чрезвычайно сложную методически работу с меченым азотом. Принимая в расчет данные Виноградского и употребляя вместо сахара соли кислот в качестве единственного источника углерода, то же самое можно обнаружить простым определением азота в фильтрате культур, что и было проделано нами (Работнова и Родионова; Микробиология, XXII, 415, 1953 и Работнова и Глаголева, там же, 506). Определяя аммиак в нативной культуральной жидкости реактивом Несслера, мы наблюдали не типичное для аммиака зеленоватое окрашивание. Не исключено, что в среде накапливается не только аммиак, но и еще какое-нибудь близкое соединение.

И. Работнова

Wiggins E. H., Mann P. F. E., Trevelyan W. E. and Harrison J. S. **Effect of pH on the synthesis of cell carbohydrate during fermentation by Baker's yeast** (Влияние pH на синтез клеточных углеводов пекарскими дрожжами при брожении). Biochimica et Biophysica Acta, v. 8, No. 5, pp. 537—542, 1952.

У авторов настоящей статьи возникла мысль, что фосфорилаза дрожжей может быть локализована на клеточной поверхности и ее деятельность может быть связана как с внешним pH (среды), так и с внутренним pH (клетки). Для проверки этих предположений авторы решили повторить опыты Sussman, Spiegelman и Reiner, которые сообщали (J. Cell. Comp. Phys., **29**, p. 149, 1947), что при сбраживании глюкозы при pH 4,5 пекарские дрожжи образуют до 80% от теоретического количества CO_2, а при pH = 8,5 они могут образовать до 93% CO_2. Эти исследователи интерпретируют данное явление как показатель подавления синтеза клеточных углеводов при высоком pH,

а впоследствии они объясняли это непосредственным влиянием pH среды на фосфорилазу дрожжей.

При проведении опытов авторы настоящей статьи в основном воспроизвели условия опытов Sussman с соавторами, с той лишь разницей, что, кроме pH = 4,5 и 8,5, были взяты среды с промежуточными значениями pH = 7,0, а также проводили количественный анализ углеводов дрожжевой клетки перед брожением и после брожения, предпочитая этот метод определения только количества выделяющейся CO_2 в качестве показателя степени синтеза углеводов.

Для экспериментов были взяты дрожжи Saccharomyces cerevisiae D. C. L. 211. За динамикой выделения CO_2 наблюдалось в обычном аппарате Варбурга при 120 циклах в минуту при 30°. В противоположность предыдущим исследованиям по этому вопросу в данных опытах велись наблюдения также и за скоростью брожения. Как показали опыты, скорость сбраживания глюкозы, а отсюда и потребление дрожжами глюкозы сильно зависели от pH.

Скорость брожения и процент глюкозы, превращенной в клеточные углеводы, оставались неизменными, когда pH внешней среды изменялся от 4,5 до 7,0. При pH = 8,5 скорость брожения была вдвое меньше по сравнению со скоростью брожения при pH = 4,5 или 7,0, но процент глюкозы, превращенной в углеводы клетки, оставался неизменным. Следовательно, данные Sussman и др. о том, что повышение pH среды сказывается в уменьшении синтеза клеточных углеводов, не имеют общего применения.

Кроме того, авторами было установлено, что процент превращения глюкозы в клеточные углеводы зависит по меньшей мере от пяти причин, каждая из которых, в свою очередь, зависит от изменений внутриклеточного pH, вызываемых изменениями в pH внешней среды.

Поэтому авторы считают чрезвычайным упрощением всего процесса представление Sussman с соавторами о непосредственном влиянии pH внешней среды на фосфорилазу дрожжей.

Н. Вербина

Fornachon J. C. M. **The accumulation of acetaldehyde by suspensions of yeasts.** (Аккумуляция ацетальдегида суспензиями дрожжей). Australian J. Biol. Sci., v. 6, No. 2, pp. 222—233, 1953.

Хересные дрожжи Saccharomyces beticus, когда они растут в виде пленки на среде, содержащей спирт, образуют ацетальдегид. Автором было показано, что эти дрожжи способны образовывать ацетальдегид также при выращивании их на качалках, но в присутствии этилового спирта в воздухе. Способность к аккумуляции альдегида в таких же условиях была обнаружена и у других дрожжей — Sacch. carlsbergensis, Sacch. elipsoideus, Sacch. cerevisiae.

Образующийся ацетальдегид может потребляться суспензиями дрожжей как в аэробных, так и в анаэробных условиях при отсутствии спирта в среде, а также в присутствии спирта в анаэробных условиях. Когда же дрожжевые суспензии выращиваются на качалках в аэробных условиях в присутствии как спирта, так и альдегида, то необходимо соблюдать определенное равновесие в концентрациях этих двух компонентов в среде. Соотношение спирт: альдегид не является постоянным,— оно изменяется в зависимости от изменения концентрации спирта и температуры, а также под влиянием некоторых других веществ, присутствующих в среде.

Н. Вербина

Raghavendra Rao M. R. a. Stoker J. L. **Utilisation of ethanol by acetic acid bacteria.** (Использование этилового спирта уксуснокислыми бактериями). J. Bact., v. 66, No. 6, pp. 634—638, 1953.

Известно, что уксуснокислые бактерии Acetobacter suboxydans и Acetobacter melanogenum не растут на синтетических средах с этиловым спиртом в качестве единственного источника углерода и требуют для своего развития присутствия в среде дрожжевого автолизата, печеночного экстракта или пептона. Авторы изучали механизм стимулирующего действия указанных веществ на уксуснокислые бактерии. Экстракт из дрожжей, триптон, пептон и мясной экстракт слабо стимулируют рост и кислотообразование; наибольшим активирующим действием обладает дрожжевой автолизат и печеночный экстракт. Освобожденные от анионов и катионов дрожжевой автолизат и печеночный экстракт не теряли стимулирующего действия, следовательно, оно связано с неполярными соединениями — углеводами и подобными им веществами.

Анализы показали, что активирующее действие стимулирующих рост и кислотообразование веществ прямо пропорционально содержанию в них редуцирующих сахаров. Если освободить от сахаров дрожжевой автолизат путем культивирования на нем дрожжей, то он теряет свое стимулирующее действие. Присутствие в среде глюкозы, фруктозы, маннита или глицерина в количестве 0,1% полностью заменяет дрожжевой автолизат. На среде, содержащей $CH_3C^{14}H_2OH$ и глюкозу, клетки становились радиоактивными, чего не наблюдалось при культивировании бактерий на среде с одним спир-

том, меченным по углероду. Авторы приходят к заключению, что содержащиеся в дрожжевом автолизате или печеночном экстракте или непосредственно добавленные в среду сахара необходимы для начала роста уксуснокислых бактерий, которые, начав развиваться на сахарах, затем переходят к использованию этилового спирта в качестве источника углерода и энергии.

Е. Рубан

Newburgh R. W. **Phosphorylation and chemosynthesis by Thiobacillus thiooxidans.** (Фосфорилирование и хемосинтез у Thiobacillus thiooxidans). J. Bact., v. 68, No. 1, p. 93—97, 1954.

Vogler and Umbreit (1942) нашли, что Thiobacillus thiooxidans, окисляя серу в атмосфере, лишенной CO_2, употребляет неорганический фосфат и, наоборот, в условиях, исключающих окисление серы, но в присутствии CO_2, вновь выделяет в среду ранее поглощенный фосфат при одновременной ассимиляции CO_2. Из этих данных был сделан вывод, что энергия, необходимая для ассимиляции и восстановления CO_2, фиксируется в макроэргических фосфатных соединениях и может быть использована даже в том случае, когда окисления серы и дальнейшего фосфорилирования не происходит. Однако такое заключение было подвергнуто сомнению Baalsrud and Baalsrud (1952), которые пришли к заключению, что ассимиляция CO_2 сопряжена с окислением серы только тогда, когда в среде одновременно присутствуют и O_2 и CO_2.

В реферируемой работе все эти вопросы изучались с применением P^{32} и C^{14}. Культура Thiobacillus thiooxidans выращивалась на среде Старки (0,4 г $(NH_4)_2SO_4$, 0,25 г $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,5 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01 г $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,21 мл 85% ортофосфорной кислоты и 10 г серы в порошке на 1 литр дестиллированной воды); pH среды доводилось до 3,5 путем добавления 20% КОН. Культивирование проводилось на качалках, дающих 250 оборотов в минуту. Для опытов с фосфатами, содержащими P^{32}, и с $C^{14}O_2$ (который получался действием кислоты на $NaHC^{14}O_3$), использовалась 5-дневная культура в логарифмической фазе роста. Клетки отделялись от среды и переносились в фосфатный буфер (pH-3,0), содержащий 23 μг P в 1 мл. В зависимости от требований опыта суспензия помещалась: в атмосферу чистого N_2, $N_2 + 20\%$ O_2, воздуха, свободного от CO_2, и обычного воздуха; в необходимых случаях к ней добавлялась сера и P^{32}. Потребление фосфатов учитывалось по изменению активности P^{32} в среде; фиксация $C^{14}O_2$ определялась путем анализа активности экстракта, получаемого при кипячении клеток в 70% этаноле.

В результате опытов было установлено, что дыхание клеток, определявшееся манометрически, в отсутствии серы (т. е. эндогенное дыхание) лежит в пределах ошибки измерений; в присутствии серы потребление O_2 резко возрастает. Поглощение P^{32} наблюдалось только при одновременном присутствии в среде S, O_2 и CO_2; в среде, лишенной CO_2, поглощения P^{32} не происходило. В отличие от данных Baalsrud and Baalsrud было показано, что в условиях, исключающих окисление серы происходит легко уловимая изотопным методом фиксация $C^{14}O_2$, однако, вопреки данным Vogler a. Umbreit, эта фиксация лишь немногим выше в клетках, выдерживавшихся предварительно в аэробных условиях, чем в клетках, находившихся в атмосфере чистого N_2.

А. Лозинов

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

М. В. Федоров. **Руководство к практическим занятиям по микробиологии**. 2-е издание. Государственное издательство сельскохозяйственной литературы. Москва, 1951. 279 стр.

«Руководство к практическим занятиям по микробиологии», составленное профессором М. В. Федоровым, обладает рядом неоспоримых достоинств. Эта книга в настоящее время является настольной в лабораториях сельскохозяйственной микробиологии вузов и научно-исследовательских учреждений.

Микробиология бурно развивается в нашей стране. В исследовательскую и практическую работу в области микробиологии с каждым годом вовлекаются все новые и новые кадры, которым приходится решать разнообразные вопросы, стоящие перед агротехникой, почвоведением, зоотехникой.

В эти работы вовлекается много молодежи, нередко только что вышедшей из стен вузов. Естественно, что в литературе она ищет путей и методов для решения многих вопросов, ищет в первую очередь в «практических руководствах». Вот почему и требования к ним должны быть особенно значительными и определяться теми большими задачами, которые стоят перед нашей наукой.

Практическое руководство должно, в первую очередь, знакомить с новейшими методами исследования; в нем должен также содержаться основной материал, демонстрирующий и углубляющий разделы теоретической части курса. Учащиеся после проработки его должны приобрести сумму навыков исследования, которые они затем смогут практически использовать в своей повседневной работе.

Создание руководства к практическим занятиям по микробиологии связано со специфическими трудностями. Микробиологические исследования обычно требуют длительных наблюдений, определяющихся особенностями роста и развития микроорганизмов. Поэтому при относительно небольшом количестве часов, отводимых на практические занятия, весь фактический объем работ учащимися не может быть выполнен и они в состоянии проработать только основные звенья исследования.

Поэтому в руководствах ознакомление с приемами исследования, которые не могут быть фактически проработаны, должно стройно сочетаться с конкретными заданиями, которые обязательно должны быть выполнены.

Руководство В. М. Федорова написано на высоком теоретическом уровне с учетом последних достижений науки.

Теперь остро назревает необходимость переиздания этой полезной книги. Поэтому в настоящей рецензии нам хочется вкратце сделать ее анализ, указать на некоторые недочеты, устранение которых в следующем издании было бы желательным.

Большим достоинством книги является то, что в ней гармонически сочетается описание морфологических методов исследования микроорганизмов с описанием методов исследования их биохимизма. Это повышает значимость руководства, очень наглядно заставляет учащихся понять роль микробов как «химических реагентов».

Несомненно, лучшая часть руководства — описание методов почвенных микробиологических исследований. Они описаны автором наиболее полно. Это до некоторой степени поглощает другие разделы сельскохозяйственной микробиологии, которые незаслуженно освещены слабее.

В руководстве, например, излагается «Взаимоотношение между почвенными микроорганизмами» (глава XIII); желательно было бы описание методов изучения взаимоотношения между микроорганизмами подчинить решению современных задач, в частности — изысканию микроорганизмов антагонистов и антибиотиков против фитопатогенных микроорганизмов.

Нам представляется, что следовало бы вкратце сказать и о современных методах исследования бактериофага и фильтрующихся форм микроорганизмов.

В руководстве приводятся методы выведения чистых культур микроорганизмов, но не описываются методы селекции и направленного воспитания производственных рас микроорганизмов. Очень мало сказано о методах селекции рас для изготовления бактериальных удобрений. Ни слова не упоминается о методах селекции микроорганизмов для первичной переработки сельскохозяйственных продуктов (силосование, квашение овощей, мочка лубяных культур, виноделие и т. д.). Желательно было бы вкратце описать основы методов селекции микроорганизмов для производства.

Ценным достоинством книги является детальное изложение ряда методов исследования, имеющих большую практическую направленность, в частности «Микробиологические методы определения запаса мобилизуемых питательных веществ в почве» (гла-

ва IX), «Методика определения числа жизнеспособных бактерий в бактериальных удобрениях» и т. д. Дополнительно отдельные разделы этих глав, возможно, следовало бы проиллюстрировать конкретными примерами и цифрами и показать,— что же является нормой.

Желательно было бы также несколько усилить разделы книги, посвященные основным принципам микробиологического контроля, главное же — показать его практическое значение.

Это замечание особенно относится к «Микробиологическим методам исследования некоторых пищевых продуктов» (глава XVI). Здесь кратко и хорошо изложены основные микробиологические методы исследования молока, рыбы, мяса и консервов. Однако не приведены нормы содержания тех или иных микроорганизмов в связи с характеристикой качества продукта; поэтому результаты экспериментальной работы учащегося останутся неосмысленными, или он для получения ответа об оценке качества продукта по полученным данным должен будет обращаться к другим источникам.

Это замечание в полной мере относится к разделу «Методы количественного учета кишечной палочки». Здесь подробно изложены основные методы определения колититра. Однако не дано ни одной цифры санитарной оценки воды и пищевых продуктов по ее содержанию.

Нам представляется, что иллюстрация данных разделов конкретным материалом сделала бы их более целеустремленными, еще более повысила бы практическую ценность книги.

Микробиологические методы оценки качества силоса и квашеных овощей в последние годы хорошо разработаны советскими учеными. Возможно, что их также следовало бы внести в книгу.

Расположение материала в книге в целом — последовательное и стройное; лишь в немногих местах последовательность не выдерживается. Так, раздел «Количественный учет бактерий по физиологическим группам» дан в главе «Методы изолирования бактерий в чистую культуру и количественный учет их» (глава V), но здесь не сделано указание на все необходимые питательные среды для учета отдельных физиологических групп. Рекомендации некоторых сред содержатся в других главах. Так, некоторые среды, широко применяющиеся в исследованиях почвенной микрофлоры (среда Чапека, крахмальные среды и др.), рекомендуются только для исследования микрофлоры ризосферы (глава XII). Удалена от этого раздела с ним органически связанная глава «Качественное определение микрофлоры почвы в условиях элективной культуры» (глава X). Раздел «Средняя проба почвы для бактериологических исследований» дан в конце книги (стр. 241).

Это несколько нарушает цельность изложения. Приведение в разделе «Количественный учет бактерий по физиологическим группам» перечня всех необходимых для анализа сред облегчило бы работу начинающего микробиолога.

В методике естествознания многократно дискуссировался вопрос о способах изложения экспериментальных методов исследования, обладающих многочисленными модификациями. Мы полагаем, что в руководствах для высшей школы их изложение в большинстве случаев рационально начинать с изложения общих принципов метода, сформировавшихся в процессе исканий исследователей, иллюстрируя затем метод отдельными модификациями его применительно к конкретным задачам.

Автор, как правило, очень четко, рельефно и сжато описывает методы микробиологического исследования, но иногда описание отдельных методов исследования начинает с деталей, имеющих частный характер, и уделяет меньшее внимание изложению общих принципов метода, а иногда опускает некоторые широко принятые модификации его. В дальнейшем мы приведем примеры, иллюстрирующие это положение.

Таковы общие замечания о книге в целом.

Остановимся на разборе некоторых глав в последовательности их изложения.

Руководство правильно начинается с описания «Микроскопа и техники его использования». В главе излагается история изобретения микроскопа, детально описываются устройство оптического микроскопа и техника микроскопирования. Приводится также описание устройства и основных принципов работы с флюоресцентным, фазово-контрастным и электронным микроскопами. Глава эта очень удачна. Она вводит читателя в курс истории вопроса, показывает путь формирования современных методов исследований. Написана глава очень хорошо и доступно. Здесь хотелось бы только, чтобы автор, помимо физического описания приборов, проиллюстрировал область применения новых методов микроскопических исследований конкретными примерами и показал некоторые достижения микробиологии, полученные с их применением. Следовало бы здесь дать и несколько фотографий микроорганизмов при изучении их с помощью новых методов. Это очень оживило бы и «биологизировало» физическую часть изложения.

Достаточно полно описаны и «Приготовление препаратов и их окраска» (глава II), а также «Исследование микробной клетки» (глава III). Здесь автор, избегая излишних для учебного руководства подробностей, умело подобрал наиболее существенные, вполне выполнимые учащимися рекомендации.

Глава IV «Питательные среды и их стерилизация» непосредственно начинается с описания приготовления мясо-пептонного бульона. Изложение этой главы, возможно, лучше было бы начать с описания общих принципов изготовления питательных сред

для микроорганизмов, которые строятся, исходя из изучения конкретных потребностей их в питательных компонентах. Нам представляется, что следовало бы сразу ввести понятие об универсальных и элективных, естественных и искусственных, жидких и твердых питательных средах.

Технику приготовления твердых питательных сред следовало бы дать несколько детальнее, в частности, указать температуру плавления желатиновых сред в зависимости от содержания в них желатины. Желательно было бы несколько расширить и количество описываемых сред (в частности, дать рецептуру ряда искусственных сред, дрожжевого автолизата и других сред, широко применяющихся в практике).

Стерилизацию солодовых сред автор рекомендует производить в автоклаве «при 110° 3 раза, по 30 минут через каждые 24 часа» (стр. 71). В практических работах обычно хорошие результаты достигаются и однократной стерилизацией их в автоклаве.

Техника стерилизации изложена обстоятельно; лишь описание стерилизации в автоклаве необходимо было бы несколько детализировать, в частности, указать на меры предосторожности, а также дифференцировать условия стерилизации под давлением в зависимости от состава среды.

Глава V «Методы изолирования бактерий в чистую культуру и количественный учет их» начинается с описания выделения бактерий по методу Коха при посеве в толщу расплавленной мясо-пептонной желатины в пробирке, с последующим внесением ее содержимого в чашку Петри. Затем автор пишет: «совершенно аналогичные операции приходится производить и в случае разливок на агаровых средах, только все операции следует производить быстрее, потому что агаровая среда гораздо скорее застывает» (стр. 83). Желательно было бы здесь детальнее указать на особенности посева в агаровые среды, обусловленные их температурой плавления и застывания. Это облегчило бы работу учащихся.

Автор ограничивается изложением только указанной модификации метода выделения чистых культур и затем приступает к описанию микроманипулятора.

В этой главе, возможно, следовало бы указать и на широко принятую в лабораторной практике модификацию метода — посев петлей на поверхность среды, застывшей в чашке Петри, а также упомянуть о недостатках способа Коха.

Желательно было бы дать понятие и о простых методах выделения чистых культур из одной клетки при визуальном контроле под микроскопом (метод Линднера, Гансена и др.); они просты и широко применяются в лабораторной практике. В настоящее время описаны и другие упрощенные методы получения абсолютно чистых культур микроорганизмов.

Методы количественного учета бактерий в почве описаны очень хорошо и полно. В разделе «Метод прямого счета бактерий под микроскопом» следовало бы дать описание и применяющихся для этого аппаратов. Описание камеры Тома Цейса автором дано, но в конце книги — в разделе «Микробиологическое исследование рыбы и мяса» (стр. 238).

Глава VI «Превращение микроорганизмами безазотистых органических веществ» содержит хороший, тщательно подобранный материал.

Глава начинается с описания спиртового брожения. Хотелось бы только, чтобы здесь были приведены некоторые методы исследования, широко принятые в лабораторной практике, в частности, метод пробного брожения и его применение при оценке бродильных способностей дрожжей и изучении влияния на них различных факторов и т. д.

При микроскопическом изучении дрожжей автор ограничивается указанием: «рекомендуется подобрать такое место препарата, на котором хорошо видны взрослые клетки в стадии почкования». Здесь желательно было бы указать на изменения в морфологии дрожжевой клетки, коррелирующие с изменением ее физиологического состояния. Дать простые приемы обнаружения мертвых дрожжей, выявления в них гликогена и т. д. Все это имеет большое значение в технике микробиологического контроля и очень демонстративно на занятиях.

В разделе «Молочнокислое брожение» не следовало бы ограничиваться только описанием молочнокислых бактерий молока, а указать на молочнокислые бактерии квашеных овощей, силоса и молочнокислые бактерии как вредителей многих производств. Нам представляется, что в качестве основной среды для исследования маслянокислого брожения для практических занятий лучше не рекомендовать мясо-пептонный бульон с глюкозой или сахарозой.

Разделы, посвященные брожению пектиновых веществ и целлюлозы, окислению целлюлозы и жира, а также и спирта в уксусную кислоту, хорошо сочетают в себе описание основных методов исследования процессов и очень демонстративны.

«Превращение микроорганизмами азотистых веществ» (глава VII) и главы книги, посвященные исследованиям микроорганизмов почвы (VIII—XIII), написаны очень выпукло и насыщенно. Они широко охватывают большой круг вопросов: группы микроорганизмов, играющих ведущую роль в создании плодородия; определение интенсивности микробиологических процессов; микробиологические методы определения запасов мобилизуемых питательных веществ в почве и, наконец, изучение ризосферной микрофлоры.

Хотелось бы только, чтобы в дальнейшем издании материал этих глав был более тесно увязан с агрономической практикой, а также чтобы автор на конкретных при-

мерах показал учащимся значение микробиологических исследований почвы в работах по повышению ее плодородия.

Следовало бы также обосновать 32 рецепта сред Е. Ф. Березовой, рекомендуемых ею для исследования ризосферных микроорганизмов.

Глава XIV «Признаки, используемые при определении вида у бактерий» написана сжато и четко. При описании культуральных признаков следовало бы дать описание основных типов колоний (они приведены на рисунке 106, но без обозначений).

Глава XV «Специальные методы культуры микроорганизмов» содержит очень ценный материал, но собран он мозаично. Глава включает различные, взаимно не связанные разделы: «Методы культуры анаэробных микроорганизмов», «Методы количественного учета кишечной палочки», «Культура микроорганизмов с повышенными дозами нейтральных солей» и т. д., «Определение относительной заселенности почвенных частиц микроорганизмами», «Методы культуры миксобактерий», «Определение числа жизнеспособных бактерий в бактериальных удобрениях», «Методика монобактериальной культуры высших растений (по М. В. Федорову)». Нам представляется, что значительная часть этих интересных разделов с успехом могла бы найти себе место в соответствующих главах книги.

В главе XVII «Общие методы исследования» по существу (кроме раздела «Средняя проба почвы для бактериологических исследований») даются методы физического, химического и физико-химического исследования. Хотя эти методы и освещаются в других дисциплинах сельскохозяйственных вузов, описание их в «Руководстве» очень целесообразно, тем более, что оно рассчитано и на работников исследовательских учреждений. Эти методы очень удачно подобраны и хорошо описаны. Желательно было бы их пополнить описанием форсированных методов определения влажности почвы, тем более, что их применение очень удобно при микробиологических исследованиях и уже широко применяется в лабораториях.

Может быть, было бы целесообразно все указанные методы, разбросанные в книге (в частности, в главе VI и др.), сосредоточить в одной главе в конце книги. В микробиологии одни и те же методы биохимических и физико-химических анализов часто применяются при исследовании различных групп микроорганизмов и различных брожений. Сосредоточение этих методов в одну главу облегчило бы пользование книгой. В отдельных местах ее следовало бы сделать соответствующие ссылки.

Вообще же большое перераспределение материала книги позволило бы его несколько сократить, что в свою очередь дало бы возможность ввести в книгу новое, значительно не увеличивая ее объема.

Оформление книги очень тщательное, из опечаток лишь укажу, что на стр. 67 напечатано: «температура плавления мясо-пептонной желатины (10—12% желатина) — около 24°», чашки же Петри с данной средой рекомендуют ставить «в термостаты с температурой 20—25° С» (стр. 82). При 25° желатиновая среда уже будет плавиться. Эту опечатку следует исправить.

Ряд авторов (в том числе и М. В. Федоров) видовые названия бактерий, происходящие от собственных имен, пишут с большой буквы, другие же авторы пишут их с маленькой. В советской литературе надо уже унифицировать это написание.

Книга хорошо иллюстрирована 120 рисунками. Однако на некоторых рисунках микроорганизмов (данных к тому же при различных увеличениях) степень увеличения не показана (рис. 81, 86, 90, 94, 97, 98, 100 и др.). На некоторых рисунках нет пояснения буквенных обозначений (например, рис. 35). На рис. 79 дано булавовидное расширение конидиеносца со стеригмами и конидиями, а приведена надпись «Головка со спорами». Неудачен рисунок дрожжей (62-й). Рисунки некоторых аппаратов (автоклавов, термостатов, стерилизующих фильтров и т. д.) следовало дать по последним моделям, выпускаемым советскими заводами.

В конце книги следовало бы привести список рекомендуемой литературы.

В целом приведенные в «Руководстве» методы исследования очень вдумчиво и тщательно подобраны, современны, надежны, хорошо и доступно изложены. Второе издание книги значительно расширено, пополнено и улучшено по сравнению с первым.

Е. И. Квасников

Вопросы применения бактериальных удобрений. Изд. Акад. наук Укр.ССР. Киев, 1953.

Расцвет биологической науки, в том числе и науки о почвенных микробах, достиг в СССР небывалых ранее размеров. Данные различного рода исследований требуют обсуждений, уточнений и выбора наиболее рациональных и правильных путей для дальнейших изысканий. Исходя из этого, Институт микробиологии Академии наук Украинской ССР организовал конференцию, посвященную вопросам применения бактериальных удобрений. Рецензируемый нами сборник представляет собой доклады участников конференции. Кроме докладов различных авторов, в сборнике отражены прения по различным вопросам, в которых имеются материалы иногда не менее интересные, чем в докладах.

После вступительного слова академика Душечкина член-корреспондент АН УССР Рубенчик сделал очень обстоятельный доклад «О микробиологических процессах в

почве и о путях управления ими». По существу этот доклад явился ведущим для всей конференции: в нем в той или иной мере были отражены взгляды участников конференции.

Однако, по нашему мнению, в этот доклад вкрались некоторые неточности, а иногда повторялись ошибки других авторов. Так, например, Рубенчик, определяя количество поколений бактерий за вегетационный период, находит, что, по подсчетам Красильникова, оно равно 20 поколениям, смена же поколений происходит за 15—20 суток. Решая такую арифметическую задачу, мы находим, что вегетационный период в южных почвах проходит в течение 300—400 дней! По нашему мнению, даже для южных почв СССР, исключая субтропики, такой вегетационный период является слишком длительным.

У Красильникова эти данные приводятся для Вахшской долины; для почв Московской области Красильников указывает 8—10 поколений. Для почв украинских, где вегетационный период длится 7—8 месяцев, по нашему мнению, и смена поколений соответственно, конечно, меньше, чем указано у Рубенчика. Кроме того, все эти вычисления настолько приблизительны, а иногда просто умозрительны, что говорить о них вообще затруднительно, не говоря уже о том, что для дальнейшей научно-исследовательской работы они по существу совершенно ничего не дают.

Указывая на изменчивость свойств азотобактера в ризосфере растений, автор приводит исследования Зиновьевой, но обходит работы других авторов, работавших в этом же направлении (Петренко и др.).

Своевременно автором доклада отмечен факт бактериотрофизма, о котором в настоящее время можно говорить, что он встречается в разных формах — от типичных клубеньков бобовых растений до нахождения бактерий внутри тканей или иногда внутри корневых волосков растений. Правда, здесь могут возникнуть сомнения,— является ли этот процесс нормальным или происходит только в отмерших или отмирающих или больных клетках тканей растений, в том числе и в корневых волосках. Однако эти факты имеют чрезвычайно большой интерес как в практическом, так и в теоретическом отношении. На очереди стоит вопрос о выяснении путей проникновения бактерий внутрь растений и вопрос о возможности направленного применения его для практических целей.

По нашему мнению, докладчику не было надобности приводить мало проверенные или совсем не проверенные в то время факты воспитания клубеньковых бактерий при прививках или при выдерживании в ультрафильтрах старых культур другого вида клубеньковых бактерий (Ф. И. Федоров, Красильников). Следует учесть, что все данные по этому вопросу, если бы даже они и подтвердились, вряд ли могли иметь какое-либо практическое применение в бактериальных удобрениях.

При изучении ризосферы растений нам необходимо очень осторожно подходить к качественному и особенно количественному изучению некоторых форм бактерий, например, клубеньковых, так как по существу у нас нет быстрых и точных методов для изолирования их непосредственно из почвы и тем более для их количественного подсчета. (Данные о клубеньковых бактериях в почве, стр. 15).

Большинство работ в сборнике посвящено азотобактеру и азотобактерину. Мишустин в своем докладе «О принципе районирования азотогена» ставит вопрос об эколого-географических расах азотобактера и в своем обширном материале дает теоретические и практические обоснования температурных рас азотобактера.

Автор совершенно правильно указывает, что бактериальные удобрения (и в частности азотобактерин) «следует использовать на почвенных фонах, обеспечивающих размножение бактерий, содержащихся в бактериальных препаратах». Исходя из этого, можно наметить почвенные зоны, а главное, агрофоны (например, известкованные подзолы), где применение азотобактерина будет наиболее эффективно.

Что касается принципа подбора рас азотобактера для изготовления азотобактерина, то автор правильно рекомендует проводить отбор рас на основе физиологических особенностей азотобактера и его эколого-географической изменчивости. Однако мы не можем согласиться с автором, когда он, основываясь на исследованиях Красильникова, считает, что азотобактер может приживаться в зоне корней далеко не всех растений (стр. 28). Сейчас имеется достаточно данных, в том числе напечатанных в рецензируемом сборнике, показывающих, что азотобактер может приживаться в ризосфере любого растения,— все зависит от создания условий для его размножения.

Изучению местных штаммов азотобактера из почв Украины посвящена статья Л. И. Рубенчика, В. Т. Смалий, Х. Г. Зиновьевой, О. И. Бертовой.

Авторами проделана большая работа по выделению местных штаммов азотобактера и по проверке их эффективности в течение 3 лет в вегетационных и полевых опытах. Из большого количества образцов почв из-под различных культур растений и плодовых деревьев было выделено около 100 штаммов азотобактера. В течение 3 лет, с 1948 по 1950 г., проводились полевые опыты с разными сельскохозяйственными растениями. Эти опыты показали, что местные штаммы азотобактера действуют эффективнее, чем стандартный № 53.

Располагая таким богатейшим экспериментальным материалом по выделению и испытанию местных штаммов азотобактера, авторы, к сожалению, недостаточно его использовали, изложивши его сжато и схематично, поэтому ряд важных вопросов в их статье не нашел отражения.

Из статьи совсем не ясно, по каким признакам — морфологическим, или по фиксации азота, или по приживаемости в ризосфере растений — отбирались местные штаммы азотобактера для сравнения со стандартным, отличались ли они от стандартного штамма, хотя бы по фиксации азота в чистых культурах.

Отсутствие таких указаний лишает других исследователей возможности использовать опыт авторов по отбору активных местных рас азотобактера.

С другой стороны, в полевых опытах не вскрыты причины различной эффективности местных штаммов по сравнению с № 53 и между собой; например, почему местный штамм 9 оказался эффективнее местного же штамма К? Следовало бы наряду с урожайными данными привести хотя бы данные по количеству азотобактера в ризосфере за вегетационный период. Возможно, отсутствие азотобактера в ризосфере является причиной малой эффективности штаммов.

При отсутствии азотобактера в ризосфере необходимо было бы обратить внимание на pH почвы и на обеспеченность фосфором. Все эти данные способствовали бы раскрытию условий эффективности местных штаммов, в чем особенно нуждается практика применения бактериальных удобрений. Отсутствие вышеуказанных данных значительно снижает ценность всей огромной работы, проделанной авторами.

В статье Х. Г. Зиновьевой и П. Ф. Маракулина «Применение азотобактерина под хмель на почвах Украинского полесья» приведены интересные данные по эффективности азотобактерина в течение ряда лет под многолетним растением — хмелем.

Заслуживает внимания тот факт, что увеличение урожая хмеля было получено не только при внесении азотобактерина при посадке черенков, но и при вторичном внесении уже под трехлетние растения.

Необходимо отметить, что азотобактерин действовал на хмель значительно лучше, чем минеральные азотные удобрения.

К сожалению, эти опыты, как и предыдущие, не сопровождались наблюдениями за состоянием внесенного под растение азотобактера.

Эффективности азотобактерина при применении под сахарную свеклу посвящены две статьи: И. А. Геллера — «Применение биопрепаратов под сахарную свеклу» и Е. Г. Харитон — «Способы повышения эффективности азотобактера для сахарной свеклы».

Автором первой статьи (И. А. Геллер) затронут важный вопрос о влиянии различных сортов сахарной свеклы на эффективность азотобактера. Показано, что на одних сортах применение азотобактера повышает урожай (сорт 591), а на других (1004) повышение очень незначительное и имеются случаи даже отрицательного влияния.

Такое взаимоотношение между азотобактером и сортами сахарной свеклы автор объясняет биологическими особенностями сортов и различным составом корневых выделений. Следовало бы эти высказывания подкрепить соответствующими экспериментами.

Автор второй статьи (Е. Г. Харитон) изучал два способа повышения эффективности азотобактера под сахарную свеклу: 1) подбор и воспитание наиболее эффективных штаммов азотобактера; 2) применение азотобактера по фону органических удобрений.

Автору не удалось путем выделения азотобактера со свекловичных полей получить штамм, который был бы эффективнее стандартного штамма 53, но ему удалось повысить эффективность этого штамма путем выдерживания его в течение двух месяцев в простерилизованной почве под разными растениями.

Но этим приемом автор не смог привить штамму 53 азотобактера специфичность по отношению к растению. На это указывает тот факт, что штамм, который был «воспитан» под овсяницей, повысил урожайность сахарной свеклы лучше, чем штамм, который был «воспитан» под сахарной свеклой.

Недостатком опытов по «воспитанию» штаммов является отсутствие контрольного варианта, в котором азотобактер «воспитывался» бы в почве без растений.

Чрезвычайно ценны данные автора, показывающие эффективность азотобактера при применении его по фону зеленого удобрения.

А. Г. Гербгарт в статье «Некоторые пути повышения эффективности азотобактерина» на основании многочисленных и детально проведенных опытов с азотобактерином на луговом черноземе и на слабоподзолистой почве Львовской области приходит к выводу, что применение азотобактерина не везде будет эффективно. В первую очередь азотобактерин должен применяться на тех почвах и для тех культур, под которыми установлены наибольшая приживаемость и размножение азотобактера.

В случае неприживаемости азотобактера в ризосфере той или другой культуры надо создать благоприятные для азотобактера условия в ризосфере этих растений. Автор рекомендует увеличить дозу азотобактерина и изменить способ внесения, а именно — вносить под пропашные — гнездовым способом, под зерновые — в гранулированном виде.

Целесообразность очагового внесения азотобактерина в настоящее время подтверждена аналогичными опытами Авдонина и Худяковой на подзолистой почве и Палатной на черноземах Ростовской области.

Раздел об эффективности азотобактерина заканчивается статьей М. П. Линчевской — «Опыт применения азотобактерина под яровую пшеницу и кукурузу». Автор,

сравнивая действие на урожай яровой пшеницы и кукурузы штаммов азотобактера, предварительно измененных в ризосфере пшеницы, приходит к выводу, что измененные штаммы лучше приживаются в ризосфере и дают более значительное увеличение урожая.

Желательно, чтобы эти интересные наблюдения были подтверждены значительно бо́льшими экспериментальными данными.

Много докладов было посвящено нитрагину и клубеньковым бактериям. Доросинский и Лопатина в докладе «Бактериальные удобрения и некоторые вопросы их применения» приводят чрезвычайно обширный материал по применению нитрагина под разные культуры бобовых растений и приходят к выводу, что необходимо самое широкое использование местных активных штаммов. Самому же понятию местных штаммов они дают более широкое определение — «как культура, приспособленная к определенным почвенно-климатическим зонам».

Однако и у этих, и у других авторов нет четкого определения понятия «местные штаммы»; этот вопрос требует еще специального обсуждения — и с точки зрения определения этого понятия, и с точки зрения экспериментальных данных. Относительно активности клубеньковых бактерий в различных возрастах многолетних бобовых растений имеется достаточная литература, авторы же доклада приводят исследования только Лазаревой. Это тем более непонятно, что исследования указанного автора доходят только до четвертой фазы или начала цветения и поэтому не дают понятия о величине усвоения азота в дальнейших фазах роста растения (например, середина цветения, начало, середина или окончание плодоношения) (таблица, стр. 38). Почти то же самое можно сказать и о том, что авторы доклада почему-то приписывают сообщение об отсутствии образования клубеньков у бобовых растений, при воспитании их в среде, богатой азотом,— Лопатиной, хотя это обстоятельство было известно гораздо ранее опубликования работ этого автора. В данном случае нет четкости в изложении фактического материала; например, авторы пишут: «Активность клубеньковых бактерий, выделенных из клубеньковых растений, выращенных таким образом [1], бывает выше». Сразу возникает вопрос: выше чего — исходного штамма? Ведь это — обычное явление повышения активности при пассаже через растение, и здесь нет ничего удивительного. Может быть, авторы подразумевали какую-либо другую величину, с которой сравнивали активность выделенного штамма, но об этом нет никаких указаний (стр. 39).

Очень интересные данные приводит Заремба в статье «Естественная инокуляция бобовых культур клубеньковыми культурами и нитрагин». В результате наблюдений за образованием клубеньков на клевере в разных почвах автор приходит к заключению, что нитрагин в ряде случаев неэффективен, потому что большинство почв естественно заражены клубеньковыми бактериями и применение нитрагина «будет эффективно только в том случае, когда нитрагинный штамм будет вирулентнее и активнее местных штаммов».

Очень интересны опыты Тулайковой, изложенные в статье «Бактеризация семян конопли». Применение в этих опытах для бактеризации семян конопли бактерии типа Bact. radiobacter и др. показало, что лучший эффект получается при бактеризации на хорошо удобренной почве. Это свидетельствует о том, что бактерии в данном случае играют роль стимуляторов, которые способствуют усвоению элементов питания и, возможно, даже выделяют вещества, которыми питаются растения.

Доклад Бельтюковой до некоторой степени соприкасается с сообщением Самцевича (выступления) о том, что нитрагин и азотобактерин стимулируют прорастание семян различных растений: люпина, гороха, льна. Бельтюкова, кроме того, нашла, что азотобактерин снижает заболевание растений от возбудителей одних болезней и стимулирует заболевание от других возбудителей. Так оздоровляющее действие азотобактерин оказал на пшеницу против пыльной головни и на фасоль-лима против каемчатой пятнистости (возбудитель Ps. vignae). Наоборот, у той же фасоли, но при другом бактериозе, вызванном X. phaseoli, процент больных растений оказался бо́льшим, чем в контроле, не обработанном азотобактерином. Автор объясняет это разностью возбудителей бактериозов Ps. vignae и X. phaseoli. Жаль, что автором не было испытано действие азотобактера на указанные возбудители бактериозов на искусственных питательных средах, где могли бы проявиться, может быть, или антагонизм или явление стимулирования между азотобактером и возбудителями бактериозов.

В прениях был поднят очень интересный и своевременный вопрос о совместном применении для семян разных протравителей (АБ, гексахлоран и гранозан) и нитрагина, а также азотобактерина. Так, Заремба указывает, что предпосевную обработку семян протравителями в сочетании с азотобактерином можно делать при условии заблаговременного протравливания (например, гранозаном за 30 дней) до обработки азотобактерином. Лопатина, наоборот, указывала, что в лабораторных условиях отравляющее действие гранозана на развитие бактерий при бактеризации продолжалось более месяца. Возникает вопрос,— что значит — более месяца,— с какого по какое время? На это нет указаний. Конечно, условия лабораторного опыта не всегда могут сходиться с условиями вегетационного или полевого опыта, тем более не из-

[1] Растения со сред с полным азотным питанием переводятся на среды, лишенные минерального азота.

вестно, как были поставлены лабораторные опыты. Недавно вышедшая работа Израильского и Миняевой показывает, что нитрагин и гранозан можно применять одновременно.

Митасова в своем выступлении подняла существенный вопрос о качестве нитрагина, указывая, что нитрагин иногда выпускается с 10% загрязнителей. Мы присоединяемся к мнению Митасовой, что ГОСТ на почвенный нитрагин надо изменить так, чтобы этот препарат выпускался без загрязнителей. Сделать это, может быть, и трудно, но можно, и главное — необходимо. Однако приготовлять такой чистый нитрагин, как предлагали некоторые из участников конференции, в колхозных условиях упрощенными методами, конечно, невозможно без соответствующей аппаратуры и персонала. Выращивать клубеньковые бактерии в так называемых бактериальных питомниках можно с большими оговорками ввиду возможности переноса при помощи такого метода различных инфекций с одного поля на другое.

Данные, сообщенные В. И. Солтынским, по применению и эффективности бактериальных удобрений в колхозах и совхозах Украины под разные сельскохозяйственные культуры свидетельствуют о широком использовании бактериальных удобрений под многочисленные сельскохозяйственные культуры и о значительной их эффективности.

Заканчивая разбор статей, напечатанных в сборнике, мы должны отметить большую ценность обширного экспериментального материала, представленного в сборнике.

Ценно то, что в сборнике своевременно обращено внимание на необходимость углубления и расширения исследования по разработке теоретических основ применения бактериальных удобрений и намечены способы дальнейшего повышения эффективности бактериальных удобрений путем подбора активных местных штаммов бактерий и создания условий в почве для их жизнедеятельности.

Несомненно, сборник будет полезен всем работникам в области сельскохозяйственной микробиологии, особенно тем, которые связаны как с применением, так и с производством бактериальных удобрений.

В. П. Израильский, Ю. С. Бородулина

БИБЛИОГРАФИЯ ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ (1951—1952 гг.)

(Продолжение, см. т. XXIII, № 5)

б) Биохимия и физиология

Krebs H. A., Gurin S. and Eggleston L. V. The pathway of oxidation of acetate in baker's yeast. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 5, p. 614—628.

Krieg A. Gilt die Spezifitätstheorie von Weidenhagen für bakterielle Karbohydrasen? Ztschr. Hyg., 1953, Bd., 136, H. 4, S. 405—406.

Krishnan P. S. Apyrase, pyrophosphatase and metaphosphatase of Penicillium chrysogenum. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 37, No. 1, p. 224—234.

Krishnan P. S. and Bajaj V. The polyphosphatases of Aspergillus niger. I. The nonidentity of metaphosphatase with apyrase and pyrophosphatase. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 42, No. 1, p. 174—184.

Krishnan P. S. and Bajaj V. The polyphosphatases of Aspergillus niger. II. Metabolic role of the polyphosphatases. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 47, No. 1, p. 39—55.

Kuhn R. und Tiedemann H. Zum Stoffwechsel des Lactobacillus bifidus, die Umsetzung von radioaktiver ^{14}C-1-Glucose. Ztschr. Naturforsch., 1953, Bd. 8b, H. 8, S. 428—435.

Kushner D. J. and Quastel J. H. Factors underlyning bacterial enzyme synthesis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, vol. 82, No. 3, p. 388—392.

Labaw L. W. The origin of phosphorus in ihe T_1, T_5, T_3, and T_7 bacteriophages of Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 4, p. 429—436.

Lamanna C. and Campbell J. J. R. Surface activity as the cause of the anomalous behavior of urethane as an inhibitor of yeast respiration. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 596—600.

Lambin S. et Bernard J. Contribution à l'étude de l'action des alcoloïdes sur les bactéries. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 6, p. 757—773.

Lambin S. et Bernard J. Recherche de l'activité bactériostatique de substances alcoloïdiques à l'égard de quelques espèces bactériennes. C. R. Soc. Biol., 1953 t. 147, No. 9—10, p. 766—770.

Lampen J. O. Metabolism of nucleic acid components in bacteria. Bacteriol. Rev., 1952, vol. 16, No. 4, p. 211—226.

Lampen J. O. Formation of ribose phosphate from xylose by extracts of Lactobacillus pentosus. J. Biol. Chem., 1953, vol. 204, No. 2, p. 999—1010.

Lampen J. O. Pentose and desoxypentose metabolism in bacteria. J. Cell. Comp. Physiol., 1953, vol. 41, suppl. 1, p. 183—206.

Landenberger R. Hemm- und Wuchsstoffe bei Pseudomonas fluorescens. Ztschr. Natuforsch., 1952, Bd. 7b, H. 11. S. 630—632.

Lang K. und Bässler K. H. Abbau von Propionsäure durch das Cyclophorasesystem und Torula-Hefe. Biochem. Ztschr., 1953, Bd. 324, H. 6, S. 401—407.

Lange-de la Camp M. und Steinmann W. Speicherung von Schwermetallen in niederen Organismen. Arch. Microbiol., 1953, Bd. 19, H. 1, S. 87—106.

Lansford E. M. and Shive W. The microbiological activity of α-keto-β, β-dimethyl-y-butyrolactone. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 38, p. 353—355.

Lara F. J. S. On the decomposition of pyrimidines by bacteria. I. Studies by means of the technique of simultaneous adaptation. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 2, p. 271—278.

Lara F. J. S. On the decomposition of pyrimidines by bacteria. II. Studies with cell-free enzyme preparations. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 2, p. 279—285.

Larsen H., Yocum C. S. and Niel C. B. On the energetics of the photosyntheses in green sulfur bacteria. J. gen. Physiol., 1952, vol. 36, No. 2, p. 161—171.

Lascelles J. Porphyrin synthesis by Rhodopseudomonas spheroides. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 1, p. IV.

Latarjet M. R. Action restauratrice de la peroxydase sur des bactéries irradiées. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 235, p. 1701—1702.

Lauffer M. A. and Cartwright T. E. Ultracentrifugation studies on potato latent mosaic virus. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 38, p. 371—375.

Leathen W. W., Braley S. A. and McIntyre L. D. The role of bacteria in the formation of acid from certain sulfuritic constituents associated with bitumi-

nous coal. I. Thiobacillus thiooxidans. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 2, p. 61—64.
Leathen W. W., Braley S. A. and McIntyre L. D. The role of bacteria in the formation of acid from certain sulfuritic constituents associated with bituminous coal. II. Ferrous iron oxidizing bacteria. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 2, p. 65—68.
Leaver F. W. Formation of propionic acid from lactic acid by Clostridium propionicum and by Propionibacterium arabinosum. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 471.
Leaver F. W. and Wood H. G. Evidence from fermentation of labeled substrates which is inconsistent with present concepts of the propionic acid fermentation. J. Cell. Comp. Physiol, 1953, vol. 41, Suppl. 1, p 225—240.
Lees H. The biochemistry of the nitrifying organisms. I. The ammonia-oxidizing systems of Nitrosomonas, Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 1, p. 134—139.
Lemoigne M., Blachère H. et Aubert J. P. Oxydation du glucose par des bactéries du genre Pseudomonas. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 236, No. 23, p. 2188—2191.
Lenhoff H. M. and Kaplan N. O. A cytochrome peroxidase from Pseudomonas fluorescens. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4381, p. 730—731.
Lenti C. und Grillo M. A. Über die Spaltung von Threonin durch Escherichia coli. Hoppe-Seylers Ztschr. physiol. Chem., 1953, Bd. 293, H. 4—5, S. 234—235.
Lester G. The β-galactosidase of lactose mutants of Escherichia coli, K_{-12}. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 40, No. 2, p. 390—401.
Lester G. and Bonner D. M. The occurrence of β-galactosidase in Escherichia coli. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, p. 759—770.
Levine S. and Krampitz L. O. The oxidation of acetone by a soil diphtheroid. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 645—650.
Leviton A. and Hargrove R. E. Microbiological synthesis of vitamin B_{12} by propionic acid bacteria. Indust. and Engineer. Chem., 1952, vol. 44, No. 11, p. 2561—2655.
Lewis G. M. and Macfarlane M. G. The lecithinase of Clostridium bifermentans toxin. Biochem. J., 1953, vol. 54. No. 1. p. 138—141.
Lichstein H. C. Metabolism of microorganisms. Ann. Rev. Microbiol., 1952, vol. 6, p. 1—28.
Lichstein H. C. and Boyd R. B. Cofactor requirements for the formic hydrogenlyase, formic dehydrogenase and hydrogenase systems of Bacteria. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 44, No. 2, p. 475—483.
Lichstein H. C. and Boyd R. B. The formic hydrogenlyase system of Aerobacter aerogens. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 617—618.
Lindenberg B. A. et Zuili S. Variation du pouvoir solvant de l'eau cellulaire en fonction de l'incrément diélectrique des molécules solutées. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 26, p. 2573—2575.
Lindquist W. Cell surface constituents and yeast flocculation. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4326, p. 544—545.
Lindquist W. High molecular compounds from brewer's yeast. I. Proteins. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 3, p. 443—452.
Lindquist W. High molecular compounds from brewer's yeast. II. Carbohydrates. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 4, p. 580—589.
Lindquist W. High molecular compounds from yeast. III. Top yeast. A comparative study. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 1, p. 90—94.
Lindstrom E. S. The α-ketoglutaric oxidase system of Azotobacter. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 565—570.
Lipmann F. On chemistry and function of coenzyme A. Bacteriol. Rev., 1953, vol. 17, No. 1, p. 1—16.
Litsky W., Esselen W. B., Jr., Tepper B. S. and Miller G. Nutritive requirements of Acetobacter. I. Vitamin requirements of Acetobacter xylinum. Food Res., 1953, vol. 18, No. 3, p. 250—252.
Litynski T. i Jurkowska H. Glaukonit jako źródło potasu dla kropidlaka czarnego (Aspergillus niger). Acta microbiol. Polonica, 1953, vol. 2, No. 1, p. 44—57.
Liu P. Utilization of carbohydrates by Pseudomonas aeruginosa. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 6, p. 773—782.
Liu P. Utilization of nitrates by Pseudomonas aeruginosa. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 375.
Lochhead A. G. and Burton M. O. An essential bacterial growth-factor produced by microbial synthesis. Canad. J. Bot., 1953, vol. 31, No. 1, p. 7—22.
Lochhead A. G., Burton M. O. and Thexton R. H. A bacterial growth-factor synthesized by a soil bacterium. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4320, p.a282.
Loeb J. R. and Mayne R. Y. Effect of moisture on the microflora and formation of free fatty acids in rice bran. Cereal Chem., 1952, vol. 29, No. 3, p. 163—175.
Loutit J. S. Studies on nutritionally deficient strains of Pseudomonas aeruginosa. I. The production by X-rays and the isolation of nutritionally deficient strains Austr. J. Exper. Biol., 1952, vol. 30, part 4, p. 287—294.

Lowther D. A. and Rogers H. J. The relation of glutamine to the synthesis of hyaluronate or hyaluronate-like substances by streptococci. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 4, p. XXXIX.

Loy H. W., Haggerty J. F. and Kline O. L. Studies on a microbiological method for vitamin B_{12} activity. J. association of official agricultural chemists, 1952, vol. 35, No. 1, p. 161—168.

Lulla B. S. Influencing of amino acids as sources of nitrogen on the formation of bacterial amylase. Sci. and Culture, 1952, vol. 17, No. 9, p. 385—386.

Luteraan P. J. Stimulation de la croissance d'un Hansenula par certains acides organiques. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 236, No. 26, p. 2531—2533.

Luteraan P. V. et Guyotjeannin C. Modifications apportées au procédé de Guerra pour l'étude de la fermentation des sucres par les levures zymatiques. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 4, p. 819—822.

Maaløe O. and Symonds N. Radioactive sulfur tracer studies on the reproduction of T_4 bacteriophage. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 177—182.

Maas W. K. and Davis B. D. Production of an altered pantothenate synthesizing enzyme by a temperature-sensitive mutant of Escherichia coli. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 1952, vol. 38, No. 9, p. 785—797.

Maas W. K., Novelli G. D. and Lipmann F. Acetylation of glutamic acid by extracts of Escherichia coli. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 1953, vol. 39, No. 10, p. 1004—1007.

Maas W. K. and Vogel H. J. α-ketolsovaleric acid a precursor of pantothenic acid in Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 4, p. 388—393.

Maccacaro G. A. e Lugli. A. M. Premesse sperimentali al dosagrio della tiamina con un ceppo di Escherichia coli. Boll. Soc. Ital. Biol. sper., 1953, vol. 29, fasc. 2, p. 181—183.

McCoy T. A. and Wender S. H. Some factors affecting the nutritional requirements of Streptococcus faecalis. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 6, p. 660—665.

McLaren A. D. and Knight C. A. The response of Leuconostoc mesenteroides P-60 to some compounds related to lysine. J. biol. Chem., 1953, vol. 204, No. 1, p. 417—422.

McLaren J. A. The effects of certain purines and pyrimidines upon the production of riboflavin by Eremothecium ashbyii. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 2, p. 233—241.

Mc Lean D. J. and Purdie E. F. Effect of amino acids, purines and pyrimidines on carbon dioxide fixation by Serratia marcescens. J. biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 2, p. 539—545.

Mac Leod R. A. The toxicity of o-phenanthroline for lactic acid bacteria. J. biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 2, p. 751—760.

McNutt W. S. Nucleosides and nucleotides as growth substances for microorganisms. Fortschr. Chem. Organ. Naturstoffe, 1952, No. 9, S. 401—442.

Macura J. a. Stavělik Z. Přeměna glukosy azotobakterem. Československá biologie, 1953, Roč. 2, č. 3, p. 154—161.

Magasanik B., Brooke M. S. and Karibian D. Metabolic pathways of glycerol dissimilation. A. comparative study of two strains of Aerobacter aerogenos. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 611—619.

Malgras J., Meyer J., Sartory R. et Clavelin C. Recherche et dosage de quelques facteurs de croissance dans un milieu à base d'hydrolysat de protéines. Ann. Inst. Pasteur, t. 85, No. 5, p. 664—665.

Mallette M. F. and Lamanna C. A. comparative study of the preparation and properties of ribonucleic acids of yeast. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 47, No. 1, p. 174—189.

Malmgren H. Enzymatic breakdown of polymetaphosphate. Svensk Kemisk Tidskrift, vol. 64, No. 27, p. 27—39.

Mamelak R. and Quastel J. H. Amino acid interactions in strict anaerobes (Cl. sporogenes). Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 12, No 1/2, p. 103—120.

Mandels G. R. Localization of carbohydrases at the surface of fungus spores by acid treatment. Exp. Cell Res., 1953, vol. 5, No. 1, p. 48—55.

Mandels G. R. The properties and surface location of an enzyme oxidizing ascorbic acid in fungus spores. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 42, No. 1, p. 164—173.

Manil P. et Straszewska Z. Action du sulfate de béryllium sur la levure (Saccharomyces cerevisiae), C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 5—6, p. 525—528.

Manson E. E. D. and Pollock M. R. The thermostability of penicillinase. J. Gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 1, p. 163—167.

Manson L. A. Metabolism of ribonucleic acid in normal and bacteriophage-infected Escherichia coli. Federation Proc., 1953, vol. 12, No 1, part 1, p. 242.

Marchal J. G. et Clairet P. Influence du pH sur l'apparition du pigment violet cobalt après apport de sulfate ferreux dans une culture incolore de Pseudomonas cattleyaecolor effectuée en milieu L. sans fer. Trav. du Labor. de Microbiol. de la Pharm. de Nancy, 1953, fasc. 17, p. 73—74.

Marchal J. G., Clairet P. et. Dupaix-Lásseur A. Contribution à l'étude du rôle des éléments inorganiques dans le métabolisme bactérien. Influence des oligo — éléments sur la chromogenèse. Trav. du Labor. de Microbiol. de la Pharm. de Nancy, 1953, fasc. 17, p. 55—72.

Marchal J. G. et Dupaix-Lasseur A. Importance du carbone et de l'azote en position α dans l'acide aminoacétique sur la chromogenèse de Bacillus roseus fluorescens. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 13—14, p. 1267—1268.
Marchal J. G. et Lotz F. Pigment produit par Pseudomonas cattleyaecolor et vitamine B_1. Trav. du Labor. de Microbiol. de la Pharm. de Nancy, 1953, fasc. 17, p. 31—48.
Marchal J. G. et Lotz F. Synthèse de la vitamine B_1 ou de ses constituants par Serratia marcescens. Trav. du Labor. de Microbiol. de la Pharm. de Nancy, 1953, fasc. 17, p. 49—54.
Marchal J. G. et Mittwer T. Contribution à l'étude du métabolisme des acides aminés par les bactéries chromogènes. Application de la méthode chromatographique sur papier. Trav. du Labor. de Microbiol. de la Pharm. de Nancy, 1953, fasc. 17, p. 107—117.
Marchal J. G. et Pouteau-Thouvenot M. Action du fer sur les bactéries. Son influence sur la respiration de B. roseus fluorescens en l'absence ou en présence de dihydrostreptomycine (I). Bull. d. l'assoc. d. Diplom. p. Microbiol. d. l. facult. d. Pharm. de Nancy, 1952, No. 47, p. 21—32.
Marchal J. G. et Pouteau-Thouvenot M. Quelques observations concernant la respiration de Bacillus roseus fluorescens cultivé en milieux additionnés de dihydrostreptomycine et de streptomycine. Trav. du Labor. de Microbiol. de la Pharm. de Nancy, 1953, fasc. 17, p. 15—30.
Marshall R. O., Dishburger H. J., MacVicar R. and Hallmark G. D. Studies on the effect of aeration on nitrate reduction by Pseudomonas species using N^{15}. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 254—258.
Marmur J. Bacterial metabolism of pentose and pentose nucleosides. Jowa State Coll. J. Sci., 1953, vol. 27, No. 2, p. 217—218.
Maselli J. A. and Nord F. F. On the mechanism of enzyme action XLVIII. Investigation of the fat of Fusarium lini Bolley by means of urea adducts. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 38, 5, p. 377—383.
Maselli J. A. and Nord F. F. On the mechanism of enzyme action L. The influence of naphthoquinone on the mechanism of fat formation in Fusarium lycopersici. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 39, No. 1, 219—228.
Massart L. Metachromasy of living bacterial suspensions. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 21, S. 556.
Massart L. et Horens J. L'assimilation d'azote aminé par les levures. Enzymologia, 1953, vol. 15, fasc. 6, p. 359—361.
Mattenheimer H. Metaphosphatasen in der Bierhefe. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 20, S. 530.
Maxwell M. E. Enzymes of Aspergillus oryzae. I. The development of culture medium yielding high protease activity. Austral. J. Sci. Res., Ser. B., Biol. Sci., 1952, vol. 5, No. 1, p. 42—55.
Maxwell M. F. Enzymes of Aspergillus oryzae. II. The yield of enzymes from mutants produced by ultraviolet irradiation. Austral. J. Sci. Res., Ser. B., Biol. Sci., 1952, vol. 5, No. 1, p. 56—63.
Meder H. Über die Bedingungen der Bildung von Fumarsaüre als Endprodukt des Stoffwechsels bei Rhizopus-Arten. Ber. d. Schweiz. bot. Ges., 1952, Bd. 62, S. 164—204.
Meier R. und Schär B. Weitere Untersuchungen über Bakterienchemotaxine. Exper., 1953, vol. 9, fasc. 3, p. 93—94.
Meiklejohn J. Minimum phosphate and magnesium requirements of nitrifying bacteria. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4339, p. 1131.
Meiklejohn J. Iron and the nitrifying bacteria. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 1, p. 58—65.
Meltzer H. L. and Sprinson D. B. The synthesis of 4 — C^{14}, N^{15} — L-threonine and a study of its metabolism. J. biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 1, p. 461—474.
Metzler D. E. and Snell E. E. Deamination of serine. II. D — Serine dehydrase, a vitamin B_6 enzyme from Escherichia coli. J. biol. Chem., 1952, vol. 198, No. 1, p. 363—373.
Miklik E. Über das Eiweissabbau-und Fettspaltungsvermögen einer Rhodotorula aus der Butter. Milchwissenschaft, 1953, Bd. 8, Nr. 1, S. 23—25.
Mikolajcik E. M. and Burgwald L. H. Effect of incubation or storage temperatures on the growth of psychrophilic bacteria. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 6, p. 571.
Milatz J. M. W. and Manten A. The quantitative determination of the spectral distribution of phototactic sensitivity in the purple bacterium Rhodospirillum rubrum. Biochim. Biophys. Acta., 1953, vol. 11, No. 1, p. 17—27.
Miletic B. et Morenne P. Nouvelles recherches sur la restauration induite par la catalase chez des bactéries irradiées. Ann. Inst. Pasteur, 1952 t. 83, No. 4, p. 515—527.
Miller G. and Aschner M. The auxanographic responses of certain aneurinrequiring yeasts to aneurin, aneurin components and derivatives. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3—4, p. 361—368.
Miller I. L. and Adelberg E. A. The mechanism of kynureninase action. J. biol. Chem., 1953, vol. 205, No. 2, p. 691—698.

Miller I. L. Tsuchida M. and Adelberg E. A. The transamination of kynurenine. J. biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 1, p. 205—212.
Mims N. M. and Hinshelwood C. The adaptation of some Bact. coli strains to utilise sucrose. J. Chem. Soc. (London), 1953, No. 2, p. 663—666.
Mitchell P. Transport of phosphate across the surface of Micrococcus pyogenes: nature of the cell'inorganic phosphate. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 2, p. 273—287.
Mitchell P. and Moyle J. M. Paths of phosphate transfer in Micrococcus pyogenes; phosphate turnover in nucleic acids and other fractions. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 2, p. 257—272.
Mitra K. K. Studies on a riboflavin excreting yeast. I. Influence of some environmental factors on the growth and riboflavin production. J. Sci. a. Ind. Res., 1952, No. 11b, p. 109—115.
Mitsuhashi S. and Lampen J. O. Conversion of D-xylose to D-xylulose in extracts of Lactobacillus pentosus. J. biol. Chem., 1953, vol. 204, No. 2, p. 1011—1018.
Mizuno D., Otsu T. and Suesawa Kiyoka. Nutritional requirements of bacteria. VII. Free amino acids in the cell of staphylococci resistant to streptomycin. Jap. J. Bact., 1952, vol. 7, No. 6, p. 595—596.
Mizuno D. and Tamura Tomie. Nutritional requirements of bacteria. VIII. Pyridine-3-sulfonic acid as a growth factor. Jap. J. Bact., 1953, vol. 8, No. 1, p. 27—31.
Moat A. G. and Lichstein H. C. Factors affecting the formation of acetylmethylcarbinol by Lactobacillus arabinosus. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 324—327.
Molho D. et Molho-Lacroix L. Etude comparée de l'inhibition de E. coli (souche Monod) par la β2-d. l. thienyl-alanine et la β-threo-d. l. phenylserine. C. R. Soc. Biol., 1952, t. 146, No. 9—10, p. 730—733.
Monod J., Pappenheimer A. M. et Cohen-Bazire G. La cinétique de la biosynthèse de la β-galactosidase chez E. coli considérée comme fonction de la croissance. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 9, No. 6, p. 648—660.
Monod M. J. et Cohen-Bazire G. L'effet inhibiteur specifique des β-galactosides dans la biosynthèse «constitutive» de la β-galactosidase chez E. coli. C. R. Acad. Sci., 1953, t. 236, No. 4, p. 417—419.
Moore A. M. and Boylen J. B. Patterns of growth inhibition. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 3, p. 315—324.
Morowitz H. J. The energy requirements for bacterial motility. Bull. Amer. Phys. Soc, 1952, vol. 27, No. 3, p. 10.
Morrison G. A. Anaerobic growth of Escherichia coli in the presence of certain acids. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4360, p. 937—938.
Mortenson L. E. and Beinert H. Appearance of sulfhydryl groups during growth of Bacillus globigii. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 1, p. 101—104.
Moses W. and Joslyn M. A. The equivalence of thiamin and pyridoxine for a strain of Saccharomyces cerevisiae. I. Effect on growth rate and carboxylase activity. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 2, p. 197—203.
Moses W. and Joslyn M. A. The equivalence of thiamin and pyridoxine for a strain of Saccharomyces cerevisiae. II. The loss of pyridoxine during growth and the sparing effect of thiamin transaminase activity. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 2, p. 204—209.
Moss F. The influence of oxygen tension on respiration and cytochrome a_2-formation of Escherichia coli. Austral. J. Exper. Biol., 1952, vol. 30, part 6, p. 531—540.
Mothes K. Ein Beitrag zur Assimilation N-haltiger Verbindungen durch Bäckerhefe. Planta, 1953, Bd. 42, H. 1/2, S. 64—80.
Munch-Petersen A., Kalckar H. M., Cutolo E., Smith E. E. B. Enzymic production of uridine triphosphate: uridine diphosphoglucose pyrophosphorolysis. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4388, p. 1036—1037.
Murakami Y. Relative specificity of the chemically modified Aspergillus niger β-glucosidase. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4351, p. 522—523.
Murphy D. Structure of a levan produced by Bacillus polymyxa. Canad. J. Chem., 1952, vol. 30, No. 11, p. 872—878.
Murray S., Woodbine M. and Walker T. K. Microbiological synthesis of fat. The formation of fat from sucrose. J. Exp. Bot., 1953, vol. 4, No. 11, p. 251—256.
Najjar V. A. and Allen M. B. Production of nitrogen from nitrite by cell-free extracts of Pseudomonas stutzeri and Bacillus subtilis. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 250.
Nakano J. H. and Clifton C. E. Nutritional requirements of Clostridium tetanomorphum. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1953, vol. 84, No. 2, p. 394—395.
Nash J. B. Formation of histamine from carnosine and histidine by Escherichia coli. Texas Repts. Biol. and Med., 1952, vol. 10, No. 3, p. 639—646.
Nashif S. A. The lipase of Pseudomonas fragi. Jowa State Coll. J. Sci., 1953, vol. 27, No. 2, p. 224—226.
Nashif S. A. and Nelson F. E. The extracellular lipases of some gram-negative non-sporeforming rod shaped bacteria. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 7, p. 698—706.

Nashif S. A. and Nelson F. E. The lipase of Pseudomonas fragi. I. Characterization of the enzyme. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 5, p. 459—470.
Nashif S. A. and Nelson F. E. The lipase of Pseudomonas fragi. II. Factors affecting lipase production. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 5, p. 471—480.
Nashif S. A. and Nelson F. E. The lipase of Pseudomonas fragi. III. Enzyme action in cream and butter. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No 5, p. 481—488.
Neish A. C. Studies on the anaerobic dissimilation of glucose by Bacillus subtilis (ford's type). Canad. J. Bot., 1953, vol. 31, No. 3, p. 265—276.
Nermut M. Vliv hožčičného dusiku na růst B. coli in vitro. Scripta Medica, 1950, vol. 23, p. 481—496.
Neuberg C. und Forrest I. S. Einfache Darstellung aktiver Zymaselösungen aus Bäckerhefe. Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem., 1953, Bd. 295, S. 110—113.
Newton J. W. and Wilson P. W. Nitrogen fixation and photoproduction of molecular hydrogen by Thiorhodaceae. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 1, p. 74—77.
Newton J. W., Wilson P. W. and Burris R. H. Direct demonstration of ammonia as an intermediate in nitrogen fixation by Azotobacter. J. biol. Chem., 1953, vol. 204, No. 1, p. 445—453.
Nichol C. A., Zakrzewski S. F. and Welch A. D. Resistance to folic acid analogues in a strain of Streptococcus faecalis. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1953, vol. 83, No. 2, p. 272—277.
Nicholas D. J. D., Nason A. and McElroy W. Effect of molybdenum deficiency on nitrate reductase in cell-free extracts of Neurospora and Aspergillus. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4366, p. 34.
Nickerson W. J. Reduction of inorganic substances by yeasts. I. Extracellular reduction of sulfite by species of Candida. J. Infect. Dis., 1953, vol. 93, No. I, p. 43—56.
Nickerson W. J. and Chung C. W. Reversal of fluoride of yeast growth with glucose-l-phosphate. Amer. J. Bot., 1952, vol. 39, No. 9, p. 669—678.
Nickerson W. J. and Mankowski Z. A polysaccharide medium of known composition favoring chlamydospore formation on Candida albicans. J. Infect. Dis., 1953 vol. 92, No. 1, p. 20—25.
Nickerson W. J. and Sherman F. G. Metabolic aspects of bacterial growth in the absence of cell division. Respiration of normal and filamentous cells of Bacillus cereus. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 667—678.
Nicolle J. Action des antipodes optiques du tryptophane sur la croissance de certaines espèces bactériennes. C. R. Acad. Sci. Paris, 1953, t. 237, No. 13, p. 668—669.
Nielsen N. and Nilsson N. G. Investigations on the phosphorus metabolism in Rhodotorula gracilis. I. The influence of the phosphate content of the nutrient solution on the formation of fat. Acta Chem. Scand., 1953, vol. 7, No. 6, p. 984—986.
Nilsson N. G. and Nielsen N. Investigations on the phosphorus metabolism in Rhodotorula gracilis. II. Phosphate and phosphatide amounts in protein yeast and fat yeast. Acta Chem. Scand., 1953, vol. 7, No. 7, p. 1067—1070.
Nimmo-Smith R. H. and Brown D. J. Some effects of 2-deaminopteroylglutamic acid upon bacterial growth. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 3, p. 536—544.
Nisman B., Cohen G. N., Wiesendanger S. et Szulmajster J. La dégradation du β-hydroxybutyrate par les extraits de Clostridium saccharobutyricum. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 237, No. 25, p. 1806—1809.
Nord H. Energetics of the Pasteur effect. Acta Chem. Scand., 1952, vol. 6, No. 9—10, p. 1431—1442.
Norén B. Studies on myxobacteria. I. Growth conditions. Svensk. Bot. Tidskrift, 1952, Bd. 46, H. 3—4, S. 324—365.
Norén B. Studies on myxobacteria. II. Bacteriolytic activity. Svensk. Bot. Tidskrift, 1953, Bd. 47, H. 2, S. 309—332.
Northam B. E. and Norris F. W. A microbiological assay of inositolits development and statistical analysis. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 3—4, p. 245—256.
Northcote D. H. The molecular structure and shape of yeast glycogen. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 3, p. 348—352.
Northrop J. H. Growth and phage production of B. megatherium. I. Growth of cells after infection with C phage. II. Rate of growth phage yield and RNA content of cells. III. Effect of various substances on growth rate and phage production. J. gen. Physiol., 1953, vol. 36, No. 4, p. 581—599.
Northrop J. H. Growth and phage production of B. megatherium. IV. Kinetics of cell growth phage production and protein and nucleic acid synthesis in lysogenic megatherium cultures. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 12, No. 1/2, p. 41—50.
Novelli A. The influence of ultraviolet light and chlorophyll on the synthesis of pigment by Bacterium prodigiosum (Serratia marcescens), J. Bact., 1953, vol. 65, No. 4, p. 479.
Nurmikko V. Studies on the biosynthesis of p-aminobenzoic acid by symbiosis experiments. Acta Chem. Scand., 1953, vol. 7, No. 6, p. 942—973.
Oetker H. Untersuchungen über die Ernährung einiger Myxobakterien. Arch. Mikrobiol., 1953, Bd. 19, H. 2, S. 206—246.
Oginsky E. L. and Gehrig R. F. The arginine dihydrolase system of Streptococcus

Jacobs J. Identification of clavulone as an antimetabolite. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 2, p. 713–719.

Jagendorf A. T. and Gibbs M. The aspartic dehydrogenase system of Spinacia oleracea. II. Properties of aspartic dehydrogenase. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 2, p. 799–806.

Jagendorf A. T. and Gibbs M. The aspartic dehydrogenase system of Spinacia oleracea. III. The decomposition of citraconate. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 2, p. 807–816.

Jagendorf E. L. and Smith P. H. Effect of vitamin B_{12} derivatives on enzymatic and chemical aspects in Escherichia coli. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 2, p. 205–212.

Jaffe J. D. and Tytell A. A. The staining of Cryptosporidium belotrophum proteases by complex substrates. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 42, No. 2, p. 456–459.

Jagat H., Winzeler S., Lipkegaard G. and Lindegren C. C. The mutagenic agent in a polyploid series of Saccharomyces. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 42, No. 1, p. 175–182.

Jones W. H. The stability of some bacterial antigens toward heat and chemical inactivation. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 3–4, p. 258–269.

Jones W. H. The effect of carbon dioxide pressure on a bacterial deoxyribonuclease system. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 8, No. 1, p. 38–44.

Jukes T. H. Studies on the nutritional requirements of the Euglenoidina. I. An assay procedure for some natural and synthetic factors. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 42, No. 2, p. 456–466.

Jurtshuk P., Lovell J. F., Iwasaki H. Effect of the nature of a supporting medium on the biochemical activities of a strain of Escherichia coli. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 42, No. 1, p. 183–190.

Kalnitsky G., Lefebvre J. et Bloch J. Action inhibitrice de l'homocystéine sur la croissance bactérienne et sa prévention par certains de ses dérivés soufrés. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 235, No. 16, p. 1001–1003.

Kaplan L. M. Purification and properties of bacterial pyruvic oxidase. Amer. State Coll. J. Sci., 1952, vol. 27, No. 2, p. 287–288.

Katterman N. J. and Lindegren C. C. A single allozyme enzyme in Saccharomyces fitted by complex crossed allozymes. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 4, p. 451–456.

Katterman N. J., Skoltzow A. L. and Lindegren C. C. The absence of prototrophic mutations in galactose or sucrose of Saccharomyces. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 42, No. 1, p. 29–37.

Kelley A. B. and Kosikoff S. B. Enzyme activity and homogeneity relationships of Azotobacter before and after some selections. J. Bact. Chem., 1952, vol. 196, No. 1, p. 9–21.

Kepler J. S. and Williams I. The increase in deoxyribonuclease of virus-infected E. coli. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 42, No. 1, p. 153–165.

Kepler J. S. and Williams I. Deoxyribonuclease activity and deoxyribonucleic acid content of bacteriophage. Virology, 1952, vol. 4, No. 1, p. 107–116.

Kerkut G. D. and Wilkie J. The excretion of inorganic compounds in snails by various routes. J. gen. Physiol., 1952, vol. 8, No. 3, p. 344–354.

Kleinzeller A. The transportation of potassium ions (rubidium) into cells. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 42, No. 1, p. 76–87.

Kleinzeller A., Saifan M. M., Bielitzki P. and Pierce J. V. Effect of certain carcinogenic and noncarcinogenic hydrocarbons on cellular transport processes. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 1952, vol. 81, No. 1, p. 276–277.

Knaysi G. E. Biochemical aspects of cell growth. Bot. Rev. Microbiol., 1952, vol. 1, p. 179–196.

Knaysi G. N. The effect of amino acids on the respiration and growth of Bacterium cholerae-suis subspecies Jerusalemski. Chester J. Tennessee Acad. Sci., 1952, vol. 27, No. 1, p. 36–39.

Knaysi G. N. The decarboxylation of amino acids by Pseudomonas fluorescens A. coli group. Physiol., 1952, vol. 42, No. 1, p. 65–75.

Knaysi G. E. and Baker H. A. The relevance of resistance to Clostridium botulinum. Bacteriol. J., 1952, vol. 63, No. 1, p. XXIX.

Knaysi G. E. and Hall J. C. A study of the respiration of Micrococcus pyogenes in the presence of kerosene. Trans. Kansas Acad. Sci., 1952, vol. 55, No. 1, p. 61–73.

Koffmann N. L., Hawkins H. C. and Kelly H. C. The basic proteins of Aerobacter aerogenes with some antibacterial properties. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 37, No. 1, p. 127–130.

Kolmer H. und Wigand K. Immunchemotherapeutische Versuche mit Neosalvarsanpräparaten. Biochemie der Infektion und des Krebs. Zeitschr. Immunitätsforsch., 1952, Bd. 80, H. 4–5, S. 345–377.

Kolpin V. J., Pinkerton F. H. and Snell E. E. Purines and factors promoting growth of lactic acid bacteria. IV. Purines as growth factors for Lactobacillus delbrueckii. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 1, p. 105–115.

Kornberg A., Lieberman S. H., Bloch K., Hilmoe R. J., Leigh H. M., Weissbach A. and Stetten D. W. Enzymatic synthesis of acetyl

[illegible]
[illegible]
[illegible]

ХРОНИКА

АЛЕКСАНДР МАРКОВИЧ КАЗАКОВ

15 сентября 1954 г. скончался старейший работник в области микробиологии мяса доктор медицинских наук Александр Маркович Казаков.

Александр Маркович родился в 1883 г. в 1909 г. он окончил Московский государственный университет. По окончании университета Александр Маркович ряд лет работал в учреждениях Земства. С 1918 по 1923 г. служил в Красной Армии. С 1923 г. по 1930 г. работал в разных бактериологических лабораториях и институтах г. Москвы.

В 1930 г. А. М. Казаков переходит на работу во Всесоюзный научно-исследовательский институт мясной промышленности, где до последних дней своей жизни руководил лабораторией микробиологии и ветсанэкспертизы.

Александр Маркович Казаков являлся крупным специалистом в области микробиологии мяса и мясных продуктов. Этот раздел микробиологии у нас в стране был заложен и развит трудами Александра Марковича и его сотрудников. Перу А. М. Казакова принадлежат более 40 научных работ, из которых большинство посвящено изучению микрофлоры мяса и микробиологических и физико-химических процессов, происходящих при хранении мяса и переработке мясных продуктов.

Ряд ценных предложений Александра Марковича нашли свое применение в мясной промышленности.

Особенно широкую известность А. М. Казаков завоевал своим капитальным трудом «Микробиология мяса». 3-е дополненное и исправленное издание этой работы вышло в 1952 г. и представляет собою обстоятельную монографию, в которой удачно обобщены многолетний опыт автора и его сотрудников по микробиологии мяса с имеющимися литературными материалами отечественных и зарубежных исследователей.

Александр Маркович заслуженно пользовался большим авторитетом как крупный специалист, всегда готовый делиться своим опытом и знаниями. Все, кому приходилось сталкиваться с ним, любили и уважали его за исключительную скромность, чуткость и отзывчивость.

Александр Маркович был подлинным патриотом своей родины. С первых же дней Великой Отечественной войны он, несмотря на пожилой возраст, добровольно уходит в Советскую Армию, где прослужил с 1941 г. до 1946 года. За успешное выполнение заданий командования Александр Маркович был награжден орденами Отечественной войны и Красной звезды и медалями.

Правительство высоко оценило заслуги А. М. Казакова перед отечественной наукой, наградив его орденом Ленина.

Смерть А. М. является тяжелой утратой для нашей науки.

Я. М. Раутенштейн и В. Ш. Мирзоева

ОПЕЧАТКИ

В статье Л. Г. Логиновой и М. М. Василевской (XXIII, вып. 4) на стр. 415 в подписи под рис. 5:

Напечатано: Внешний вид дрожжей...

Следует читать: Скорость размножения дрожжей...

В статье С. А. Бариновой (XXIII, вып. 5) на стр. 526:

Напечатано: Получено 4.III.1951 г.

Следует читать: Получено 4.III.1954 г.

СОДЕРЖАНИЕ XXIII ТОМА

К дискуссии по проблеме неклеточных форм жизни у микроорганизмов 197

Алесковский М. И. Микоризация посевов дуба 297
Алпатов В. В.—М. О. Гольдин. Жизнь невидимых 234
Алфимов Н. Н. Сравнительная оценка методов определения количества бактерий в морской воде 693

Баринова С. А. Влияние углекислоты на дыхание плесневых грибов 521
Библиография 117,236,366,503,637,756
Билай В. И. О паразитарных и фитосимбиотрофных свойствах видов рода Fusarium Lk. 178
Блинков Г. Н. Содержание белков в различных штаммах Az. chroococcum из почв Сибири . . 438
Бокова Ек. Н. Окисление этана и пропана некоторыми видами микобактерий 15
Бородулина Ю. С. См. Возняковская Ю. М. 388
Бородулина Ю. С. См. Израильский В. П. 751
Браилова Н. В. См. Кублановская Г. М. 587
Броцкая С. З. Протеолитическая активность складчатого варианта Asp. niger 153

Василевская М. М. См. Логинова Л. Г. 410
Васильков Б. П. О терминологии в трудах по микоризе . . 195
Владимирская Н. Н. Значение кислорода для прорастания покоящихся спорангиев Synchytrium endobioticum (Schilb) Perc. 72
Возняковская Ю. М. Проблема микоризы и ее практическое значение (Обзор) 204
Возняковская Ю. М. и Бородулина Ю. С. Расширенный пленум секции агрохимии ВАСХНИЛ по вопросам с.-х. микробиологии 388
Войнова-Райкова Ж. Распространение азотобактера в почвах Болгарии 441
Воронкевич И. В. См. Горленко М. В. 322
Ворошилова Е. А. Микрофлора ризосферы кок-сагыза 43

Гамбарян М. Е. Распределение, численность и биомасса бактерий Севанской бухты 462
Гапоненков Т. К. О расщеплении пектиновых веществ растений ферментами микроорганизмов 317
Геллер И. А. и Юспе Ф. Б. О влиянии минеральных удобрений на микробиологические процессы почвы 451
Горленко М. В., Воронкевич И. В. и Успенская Г. Д. К биологии Pseudomonas tumefaciens — возбудителя корневого рака растений 322

Дзецина А. В. См. Манзон В. Д. 455
Дикасова Е. Т. Применение хлорной извести в борьбе с мускардиной тутового шелкопряда . 595
Доросинский Л. М. О некоторых дискуссионных вопросах в почвенной микробиологии . 600

Евлахова А. А. Развитие гриба Empusa Grylli (Fres.) Nowak в теле итальянской саранчи . 185

Жукова А. И. Значение микроорганизмов в питании Nereis succinea Каспийского моря . . 46

Забродский А. Г. и Кордюкова Н. С. Ускорение спиртового брожения продуктами разложения белков 57
Забродский А. Г. и Лещинская С. С. О жизнедеятельности дрожжей в присутствии продуктов расщепления белков 313

Ибрагимов Г. Р. Паразитизм Cordyceps clavulata в отношении Eulecanium corni Bouche . . 702
Иванова Е. Н. Изменчивость биохимических свойств культур Proteus 261
Иерусалимский Н. Д. Ответ на статью Г. П. Калины «Эмбриогенез и онтогенез микробов» 190
Иерусалимский Н. Д. Вычисление скорости роста водных микроорганизмов на стеклах обрастания 561
Иерусалимский Н. Д. См. Мишустин Е. Н. 125
Израильский В. П. Исследование изменений клубеньковых

бактерий при росте их в фильтратах других бактерий . . . 22
Израильский В. П.— М. В. Горленко. Болезни растений и внешняя среда 230
Израильский В. П. и Бородулина Ю. С.— Вопросы применения бактериальных удобрений (рецензия) 751
Имшенецкий А. А.— В. Лилли и Г. Барнетт. Физиология грибов 498
Имшенецкий А. А. и Касаткина И. Д. Активность гидролитических ферментов и изменчивость Bac. mesentericus . . . 648
Имшенецкий А. А. и Кузюрина Л. А. Окисление сорбита складчатыми расами уксуснокислых бактерий 159
Имшенецкий А. А. и Перова К. З. Активность дрожжей, адаптированных к антисептикам 53
Имшенецкий А. А. и Рубан Е. Л. Бесклеточная нитрификация. I. Выращивание культур Nitrosomonas и получение автолизата клеток 271
Имшенецкий А. А. и Рубан Е. Л. Бесклеточная нитрификация. II. Окисление аммиака автолизатами клеток Nitrosomonas 393
Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. Фильтрующиеся формы и изменчивость Bact. fluorescens liquefaciens 27

Канунникова З. А. О фильтрующихся формах молочнокислых палочек 641
Кардо-Сысоева Е. К. и Утенкова-Ранцан В. А. О выходе спирта при дрожжевом брожении. IV. Условия торможения побочных реакций 304
Касаткина И. Д. См. Имшенецкий А. А. 648
Квасников Е. И.— М. В. Федоров. Руководство к практическим занятиям по микробиологии . . 748
Китавин Г. С. О сбраживании сульфитных щелоков дрожжами 580
Козлов И. В. См. Федоров М. В. 534
Комарова Л. И. Диффузия в молочнокислом брожении при различных условиях 172
Кондратьева Е. Н. О физиологии серных и несерных пурпурных бактерий (Обзор) 719
Кононова М. М. Некоторые дискуссионные вопросы в области почвенной микробиологии 485
Кордюкова Н. С. См. Забродский А. Г. 57
Крисс А. Е. и Маркианович Е. М. Наблюдения за скоростью размножения микроорганизмов в морских водоемах . . 551
Крисс А. Е. и Новожилова М. И. Являются ли дрожжевые организмы обитателями морей и океанов? 669

Крохин Е. М. Исследование количества сапрофитных бактерий в Дальнем озере 49
Кублановская Г. М. и Браилова Н. В. О роли антибиотических веществ сока хлопчатника в иммунитете его к увяданию 587
Кузнецов С. И. См. Экзерцев В. А. 3
Кузюрина Л. А. Характеристика складчатых вариантов кэтогенных уксуснокислых бактерий . 265
Кузюрина Л. А. См. Имшенецкий А. А. 159

Лещинская С. С. См. Забродский А. Г. 313
Логинова Л. Г. и Василевская М. М. Скорость размножения термофильных дрожжей, полученных экспериментально 410
Лохвицкая М. Ф. Изменчивость плесневого гриба Asp. oryzae 527
Любимов В. И. Микроаэратор — прибор для физиологических исследований аэробных микроорганизмов 584

Малков А. М. Роль фосфатов в окислительных процессах. Взаимосвязь между внутриклеточным железом, образованием и распадом пирофосфорных соединений 133
Манзон В. Д. и Дзецина А. В. Диагностика состояния активности почвенной микрофлоры . . 455
Маркианович Е. М. См. Крисс А. Е. 551
Мешков Н. В. и Ходакова Л. Н. Влияние корневых выделений гороха и кукурузы на развитие некоторых почвенных микробов в условиях выращивания их в ризосферном растворе растений 544
Мирзоева В. Ш. См. Раутенштейн Я. И. 764
Миронов Л. А. Применение горизонтальных замкнутых кювет для светофильтров люминесцентного микроскопа 76
Митюшова Н. М. О газообмене уксуснокислых бактерий при окислении сорбита в сорбозу . 400
Мишустин Е. Н. Конференция по микробиологии почвы в Чехословакии 125
Мишустин Е. Н. и Иерусалимский Н. Д. VI Международный конгресс микробиологов в Риме 125
Мишустин Е. Н.— А. А. Имшенецкий. Микробиология целлюлозы 228

Непомилуев В. Ф. См. Федоров М. В. 166, 275, 431
Новожилова М. И. См. Крисс А. Е. 669

Опарин А. И. К шестидесятилетию со дня рождения 121
Осницкая Л. К. Численность и биомасса бактерий в водной толще северной части Каспийского моря 571
Перова К. З. См. Имшенецкий А. А. 53
Пешков М. А. О так называемых L-формах бактерий (Обзор) . . 607
Пушкинская О. И. К методике количественного учета микроорганизмов, способных разлагать клетчатку в почве 34
Работнова И. Л. Материалы к истории развития технической микробиологии в СССР. Микробиология виноделия 99
Работнова И. Л. Материалы к истории развития технической микробиологии в СССР. Микробиология в хлебопечении . . . 221
Работнова И. Л. Материалы к истории развития технической микробиологии в СССР. Микробиология в спиртовой промышленности 349
Работнова И. Л. Материалы к истории развития технической микробиологии в СССР. Микробиология в пивоварении 493
Разумов А. С.— С. И. Кузнецов. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах . . . 361
Раутенштейн Я. И. О направленной изменчивости актинофагов 140
Раутенштейн Я. И. О направленном получении фагоустойчивых культур актиномицетов . . 252
Раутенштейн Я. И. и Мирзоева В. Ш.— А. М. Казаков (некролог) 764
Рефераты 109, 629, 742
Роговская Ц. И. Влияние лактама амино-капроновой кислоты на водные микроорганизмы и биохимические процессы самоочищения воды 464
Родина А. Г. Академик Е. Н. Павловский 390
Родина А. Г. Действие растительного удобрения на процессы азотфиксации и опыт применения азотогена в рыбоводных прудах 684
Рубан Е. Л.— С. Н. Виноградский. Микробиология почвы (Проблемы и методы) 115
Рубан Е. Л. См. Имшенецкий А. А. 271, 393
Рубенчик Л. И.— Использование микроорганизмов для повышения урожайности с.-х. культур и плодородия почвы (рецензия) 635
Рубинштейн Ю. И.— В. И. Билай. Ядовитые грибы на зерне хлебных злаков 363
Рыбалкина А. В. Дискуссионные вопросы в работах эколого-географического направления в почвенной микробиологии . . . 706
Сербинова Н. И. и Сокольская Е. В. Бактериофагия у молочных палочек типа Lactobact. plantarum 424
Скородумова А. М. Антибиотические свойства дрожжей, сбраживающих углеводы 419
Сокольская Е. В. См. Сербинова Н. И. 424
Солнцева Л. И. Фильтрующиеся формы бактерий воздуха . . .249
Солнцева Л. И. См. Имшенецкий А. А. 27
Сорокин Ю. И. Роль фосфорных соединений в биоэнергетике бактериального обмена (Обзор) . . 79

Танатин Б. Я. Наличие азотобактера в некоторых необрабатываемых почвах северного Таджикистана 37
Татаренко Е. С. Влияние света на развитие плесневых грибов 29
Тимофеева А. Г. Биохимическая активность спорообразующих и не образующих споры бактерий в минерализации органических веществ в условиях песчаных культур 662
Трибунская А. Я. Приживаемость азотобактера на корнях яровой пшеницы на серых лесных почвах 283

Украинский В. Т. Клубеньковые бактерии на корнях бобовых растений 291
Улендеев А. И. О количестве ацидофильных бактерий в кишечнике лошадей 474
Успенская Г. Д. См. Горленко М. В. 322
Утенкова-Ранцан В. А. О выходе спирта при дрожжевом брожении. III. Влияние условий брожения на баланс продуктов 64
Утенкова-Ранцан В. А. См. Кардо-Сысоева Е. К. . .304

Федоров М. В. и Козлов И. В. Влияние связанных соединений азота на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в клубеньках сои и фасоли и взаимоотношения между ними и бобовыми растениями 534
Федоров М. В. и Непомилуев В. Ф. Основные формы ризосферных бактерий тимофеевки и изменение количества их клеток в ризосфере по фазам развития и годам жизни этого растения 166
Федоров М. В. и Непомилуев В. Ф. Распространение и азотофиксирующая активность азотобактера в ризосфере многолетних трав 275
Федоров М. В. и Непомилуев В. Ф. Основные формы ризосферных бактерий клевера и их количественное содержание в

ризосфере по фазам развития растения и годам его жизни . . 431

Ходакова Р. Н. См. Мешков Н. В. 544

Худяков Я. П. Современное состояние и задачи микробиологии почвы 331

Чулаков Ш. А. Распространение азотобактера в почвах Заилийского Алатау 656

Шапошников В. Н. К семидесятилетию со дня рождения . . . 131

Швецова О. И. Желтуха дубового шелкопряда и способы ликвидации ее в промышленных выкормках 477

Шнейдер Ю. И. Дырчатая пятнистость абрикосов в Краснодарском крае 698

Штерн Е. А. К изучению фильтрующихся форм гемолитического стрептококка 147

Экзерцев В. А. и Кузнецов С. И. Исследования микрофлоры нефтеносных месторождений второго Баку 3

Юспе Ф. Б. См. Геллер И. А. 451

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные статьи

З. А. Канунникова. О фильтрующихся формах молочнокислых палочек . . 641
А. А. Имшенецкий и И. Д. Касаткина. Активность гидролитических ферментов и изменчивость Bac. mesentericus 648
Ш. А. Чулаков. Распространение азотобактера в почвах Заилийского Алатау
А. Г. Тимофеева. Биохимическая активность спорообразующих и не образующих споры бактерий в минерализации органических веществ в условиях песчаных культур 656 662
А. Е. Крисс и М. И. Новожилова. Являются ли дрожжевые организмы обитателями морей и океанов? 669
А. Г. Родина. Действие растительного удобрения на процессы азотфиксации и опыт применения азотогена в рыбоводных прудах 684
Н. Н. Алфимов. Сравнительная оценка методов определения количества бактерий в морской воде 693
Ю. И. Шнейдер. Дырчатая пятнистость абрикосов в Краснодарском крае 698
Г. Р. Ибрагимов. Паразитизм Cordyceps clavulata в отношении Eulecanium corni (Bouche) 702

Дискуссия

А. В. Рыбалкина. Дискуссионные вопросы в работах эколого-географического направления в почвенной микробиологии 706

Обзоры

Е. Н. Кондратьева. О физиологии серных и несерных пурпурных бактерий 719

Рефераты

Общая микробиология, морфология, физиология и биохимия 742

Критика и библиография

Е. И. Квасников.— М. В. Федоров. Руководство к практическим занятиям по микробиологии 748
В. П. Израильский и Ю. С. Бородулина.— Вопросы применения бактериальных удобрений 751
Библиография 756

Хроника

Я. И. Раутенштейн и В. Ш. Мирзоева.— А. М. Казаков (Некролог) 764

Содержание XXIII тома 765

Т-09052 Подписано к печати 11/XII 1954 г. Печ. лист. 10,96+2 вклейки
Уч.-издат. л. 14,5 Формат бумаги 70×108 1/16. Бум. л. 4 Тираж 6000 экз. Зак. 783

2-я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.